



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA**

**Dinámicas de crecimiento en el desarrollo temprano de  
la raíz en la Serie *Supertextae* del género *Mammillaria*  
(Cactaceae).**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A :**

**JOSÉ ANTONIO LARA GONZÁLEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. ULISES YUNUÉN ROSAS LÓPEZ**

**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla,**

**Estado de México, 2024.**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Agradecimientos académicos

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por todo el conocimiento transmitido a través de sus académicos.

Al Dr. Ulises Yunuén Rosas López, por haberme hecho parte de su grupo de trabajo y por todo el apoyo brindado para concluir mi proyecto de investigación.

A mis sinodales M. en C. Antonia Trujillo Hernández, M. en C. Diana Herrera Rojas, Biol. Marcial García Pineda, Biol. Panuncio Jerónimo Reyes Santiago, por sus valiosos comentarios y observaciones, que ayudaron a enriquecer mi investigación.

Al Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM, por el acceso a sus instalaciones y materiales para trabajar este proyecto.

Al Laboratorio de Biología de Raíces del Jardín Botánico, por todo apoyo para realizar este proyecto.

Al proyecto PAPIIT DGAPA UNAM IN214322 (Las raíces vegetales como modelo de estudio de la biodiversidad, conservación, fisiología, desarrollo y anatomía) por el apoyo para el financiamiento de este proyecto.

## Agradecimientos personales

A mi Mamá, Dolores González Conde, quien siempre me apoya e impulsa a seguir adelante académica y personalmente, a mis hermanos, Araceli Lara y José Lara, por su cariño y siempre estar conmigo cuando los necesito y Angelito Sánchez Lara, por su interés y cariño hacia mí.

A Uli, gracias por todo tu apoyo e interés en lo académico, pero también en lo personal, por toda la paciencia que me has brindado y tu valioso tiempo que has invertido en mi formación, por haber visto aquel día en la feria de proyectos algo interesante en mí.

A mis compañeros del Laboratorio de Biología de Raíces del Jardín Botánico del Instituto de Biología y en especial a Uli, Chucho, Itzel y Joel, quienes fueron parte fundamental de esta investigación, gracias por su interés y sus consejos.

A mis amigos de la FES Iztacala, quienes son parte de mi formación académica y personal.

A Hada Montes por su cariño, sus valiosos consejos, la paciencia y momentos regalados.

A mis amigos de la comunidad plantera por todos los momentos agradables que me han dado.

A Felisa, Veco y Percival, por su trabajo durante mi proyecto de investigación.

<b>1. RESUMEN</b>	<b>5</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>6</b>
<b>3. ANTECEDENTES</b>	<b>8</b>
3.1 Germinación de cactáceas	8
3.2 Crecimiento temprano de la raíz	11
3.3 Desarrollo de la plántula	14
3.4 Estrés salino	16
3.5 El género <i>Mammillaria</i> .	18
3.6 Serie <i>Supertextae</i> .	23
<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>28</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>29</b>
5.1 Objetivo general	29
5.2 Objetivos específicos	29
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>30</b>
6.1 Material biológico	30
6.2 Medios de cultivo	32
6.3 Desinfección de semillas	32
6.4 Siembra y germinación de semillas.	32
6.5 Trasplante a cajas Petri.	33
6.6 Tratamiento de estrés salino inducido por cloruro de sodio (NaCl)	33
6.7 Obtención de imágenes	34
6.8 Medición de caracteres de la raíz	35
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>38</b>
7.1 Aspectos de la germinación en especies del género <i>Mammillaria</i> de la serie <i>Supertextae</i> .	38
7.2 Desarrollo temprano de la raíz en especies de <i>Mammillaria</i> de la serie <i>Supertextae</i> .	42
7.3 Desarrollo temprano de la raíz de <i>Mammillaria flavicentra</i> bajo condiciones de estrés salino provocado por cloruro de sodio (NaCl).	61
<b>8. DISCUSIÓN</b>	<b>67</b>
8.1 Germinación en especies de <i>Mammillaria</i> de la serie <i>Supertextae</i> .	67
8.2 Desarrollo temprano de la raíz en especies de <i>Mammillaria</i> de la serie <i>Supertextae</i> .	68
8.3 Desarrollo temprano de la raíz de <i>Mammillaria flavicentra</i> bajo condiciones de estrés salino provocado por cloruro de sodio (NaCl).	70
<b>9. CONCLUSIONES</b>	<b>72</b>
<b>10. LITERATURA CITADA</b>	<b>73</b>
<b>11. ANEXO</b>	<b>79</b>
11.1 Publicación del artículo de investigación: Growth patterns in seedling roots of the pincushion cactus <i>Mammillaria</i> reveal trends of intra- and inter-specific variation.	79

11.2 Publicación del artículo de investigación: Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) seedlings.

91

## 1. RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo analizar la arquitectura de la raíz, utilizando como modelo plántulas de cactáceas de la serie *Supertextae* del género *Mammillaria*, conformada por ocho especies. En este estudio se utilizaron las semillas de siete especies, *M. albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, provenientes de la colección de cactáceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM (IBUNAM). La siembra de las semillas se realizó en cajas Petri cuadradas con medio nutritivo MS y se registró la germinación cada dos días. Con las plántulas obtenidas de la germinación, se observaron las dinámicas de crecimiento de la raíz durante 157 días. Además, con *M. flavicentra* se llevó a cabo un experimento de estrés salino con dos concentraciones de cloruro de sodio (NaCl), para analizar su respuesta a dicho estrés.

De esta manera se encontraron notorias diferencias en los porcentajes de germinación entre especies de la serie *Supertextae*. *M. flavicentra* tuvo un 97%, mientras que *M. haageana* tuvo 53%, siendo esta última la de menor germinación. Con los datos obtenidos también se observó que hay diversidad en las dinámicas de crecimiento entre las especies estudiadas, al comparar los caracteres de la raíz en distintas etapas de crecimiento. Se registró variación en la longitud de la raíz principal, longitud total de las raíces laterales, longitud de las raíces adventicias y longitud de las raíces basales. Por otra parte, se observó que el NaCl inhibe el crecimiento de la raíz y del brote en plántulas de *M. flavicentra*, sin embargo, se pudo apreciar que las concentraciones de 50 mM y 100 mM no resultaron letales en las primeras semanas de experimentación.

Los resultados son relevantes para comparar la diversidad en las dinámicas de crecimiento en especies cercanamente relacionadas en la serie *Supertextae*, y que puede ponerse en contexto de la variación observada a otros niveles evolutivos, como son la variación natural entre poblaciones o la diversidad en especies del género *Mammillaria*.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son plantas que se distribuyen a lo largo del continente americano (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). Nuestro país, México, presenta cadenas montañosas a lo largo y ancho del territorio, la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre Occidental y el Eje Volcánico Transversal, creando condiciones específicas para cada uno de los ambientes, y la aparición de novedades evolutivas (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). Las cactáceas son plantas asociadas a los ambientes áridos y semiáridos, lo que sugiere que están sometidas a condiciones limitantes para su crecimiento, como: carencia de agua y nutrientes, exceso de radiación solar, temperaturas extremas, herbivoría, entre otras (Bravo-Avilez *et al.*, 2019). Esto ha propiciado que las especies adquieran características morfológicas y generen estrategias que les permitan desarrollarse exitosamente.

Una característica que distingue a las cactáceas es la presencia de zonas meristemáticas axilares llamadas areolas. Las areolas pueden tener dos funciones reproductivas principales: a) reproducción vegetativa, que origina brotes que en algún momento de su desarrollo generan a un individuo clon; y b) reproducción sexual, donde se originan las flores, que a su vez producirán semillas, por medio de la polinización cruzada (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). Las areolas pueden ser pocas muy reducidas como en el género *Rhipsalis*, o muy grandes y llenas de espinas como en el género *Opuntia*. Además, pueden poseer areolas separadas, florífera y espinífera como es el caso del género *Mammillaria* (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978).

La raíz por otra parte, es uno de los órganos más importantes y complejos de la planta, ya que entre sus funciones principales se encuentran, el anclaje al suelo y la obtención de nutrientes, además de optimizar la toma de agua del suelo a través de sus múltiples tipos de raíces (Kirschner *et al.*, 2021). Igualmente se debe de considerar que todo el desarrollo de la raíz se lleva a cabo en ocasiones, en condiciones no favorables, que hacen difícil el establecimiento de la planta. Las raíces rápidamente encuentran la forma de obtener lo necesario para poder establecerse, con la ayuda de los recursos que tienen a su disposición. Para ello se ayudan de los diferentes tipos de raíces con las que cuentan, como lo son, la raíz principal, que tiene un crecimiento en un eje principal con un gravitropismo positivo. Este tipo de raíz explora el suelo profundo en

búsqueda de agua, y desde ahí se generan las raíces laterales, que van a tener la función de explorar el suelo y extenderse, pero también se pueden generar raíces basales, que se originan en la base de la raíz, pero son cercanas al brote y funcionan para adquirir recursos que se encuentran más disponibles en la superficie del suelo. Otro tipo de raíces son las adventicias, que estas sirven como anclaje, como en el caso del maíz (*Zea mays*).

En el presente trabajo se estudió la arquitectura de la raíz, de especies de la serie *Supertextae* del género *Mammillaria*, con lo cual se trata de entender las estrategias que utiliza cada una de las especies. Conocer los atributos de la raíz y sus dinámicas de crecimiento, es fundamental para poder realizar un trabajo integrativo con cada uno de los atributos y poder aplicar este conocimiento en diversos estudios que involucren la evolución adaptativa de especies de cactáceas cercanamente relacionadas.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Germinación de cactáceas

La germinación es un proceso de gran importancia ya que es el inicio del ciclo de vida en las plantas. Comienza con la semilla, que, en el caso de las cactáceas cuenta con una cubierta en la parte externa, que tiene la función de protección contra factores bióticos y abióticos. En cactáceas, éstas son altamente esclerificadas, cuyas ornamentaciones se originan de los rudimentos seminales (tegumentos). Los colores que presentan pueden ser diversos como: castaño, café, o negro. Además, casi en todos los casos la testa de la semilla está ornamentada y las formas que puede presentar son: reticuladas, corrugadas, foveoladas o tuberculadas (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). Al interior, las semillas de cactáceas tienen poco endospermo. El embrión tiene dos cotiledones, pero la mayor parte de su tejido está conformado por el hipocótilo, que es donde se concentran la mayor parte de los materiales de almacenamiento (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). En particular, las semillas de especies del género *Mammillaria* son pequeñas, y su tamaño oscila entre los 0.5 mm a 3.0 mm (Rojas-Aréchiga *et al.*, 2012). Por lo general las cactáceas presentan una gran plasticidad que les permite germinar bajo condiciones diversas de pH, temperatura y luz (Ruedas *et al.*, 2000). Al respecto varios autores han profundizado en algunos aspectos relacionados con la germinación en cactáceas.

Dubrovsky (1996) estudió la germinación en *Pachycereus*, *Stenocereus* y *Ferocactus* a través de lo que él llamó “memoria de hidratación”, ya que las semillas de cactáceas están sujetas a periodos de sequía e hidratación; esto quiere decir que son sometidas a una deshidratación discontinua. En ese estudio, se utilizaron tres especies, que fueron hidratadas durante 80 horas, y luego deshidratadas durante 4, 14, 70, 120, y 181 días. Con esto se obtuvo que las semillas con los periodos más cortos de hidratación germinaron antes que las semillas sin pre-hidratación. Es así que se demostró que algunas especies son altamente tolerantes a periodos largos de desecación y son capaces de absorber humedad de manera discontinua.

Vega-Villasante *et al.*, (1996) probaron el efecto que tienen en la germinación distintas condiciones como escarificación química (acidez simulada con HCl), iluminación, salinidad (NaCl), irradiación solar y humedad, en *Pachycereus pecten-aborigenum* y

encontraron que las semillas perdieron en su totalidad la capacidad de germinar bajo condiciones de salinidad y una alta irradiación solar.

Ruedas *et al.*, (2000) estudiaron la respuesta germinativa en *Mammillaria magnimamma*, bajo distintas condiciones de germinación, luz, temperatura y pre-tratamientos germinativos de escarificación química. En el estudio determinaron que las semillas son fotoblásticas positivas, además de que observaron que su viabilidad fue de un 86%, mientras que la temperatura fue clave en la velocidad de germinación; por otro lado, el tratamiento con HCl no tuvo un impacto en la respuesta germinativa.

Sánchez *et al.*, (2005) estudiaron el efecto que tienen los ciclos de hidratación-deshidratación sobre las semillas de *Mammillaria mazatlanensis*, *Stenocereus alamosensis* y *S. thurberi*, demostrando así que las semillas de estas especies germinaron en más del 87% sin presentar diferencias significativas entre las especies. Esto indica que la memoria de hidratación es un fenómeno que se presenta en varias cactáceas, incluidas las especies del género *Mammillaria*.

Flores *et al.*, (2006) estudiaron el efecto de la germinación con un fotoperiodo de 14 horas, en 28 especies de cactáceas. El resultado de dicho trabajo arrojó que todas las especies estudiadas son fotoblásticas positivas, obteniendo así que la oscuridad desencadena la latencia secundaria en las semillas de cactáceas.

Sánchez-Soto *et al.*, (2010) evaluaron cuál es el efecto que produce la luz y la temperatura en tres especies: *Mammillaria mazatlanensis*, *Stenocereus alamosensis* y *S. thurberi*. En dicho trabajo se demostró que estas especies germinaron hasta un 90% bajo condiciones de luz constante y sombra temporal, mientras que la temperatura no tuvo diferencias significativas entre los tratamientos.

Ruíz-González *et al.*, (2011) realizaron un estudio en semillas de *Echinomastus unguispinus* y en éste mostraron características morfológicas de la semilla de esta especie, como color café oscuro y lustrosas en la testa. Se reportó que esta especie tuvo una germinación del 81.8% a una temperatura constante de 25 °C y 12 horas de fotoperiodo, demostrando así que las semillas son fotoblásticas positivas, mientras que las semillas que fueron sometidas a oscuridad no presentaron germinación, hasta el momento en el que se transfirieron a la luz, presentando así únicamente un 42% de germinación.

Rojas-Aréchiga *et al.*, (2012) determinaron la respuesta fotoblástica de 54 especies de cactáceas. Las semillas mostraron un tamaño medio y sus medidas fueron desde los 0.5 a 3.0 mm, sin embargo, no encontraron evidencias claras sobre una correlación entre el tamaño y su característica de ser fotoblásticas positivas.

Bárcenas-Argüello *et al.*, (2013) estudiaron el proceso de la germinación en tres especies de *Cephalocereus* y encontraron que los porcentajes de germinación fueron estadísticamente significativos tanto para el porcentaje de germinación, como para la velocidad de germinación. Asimismo, encontraron que las semillas de la misma especie, pero de diferente población tuvieron valores de germinación diferentes, asumiendo que se debe a los factores que predominan en cada uno de estos ambientes. Esto también es indicativo de la variación natural que hay en patrones de germinación en poblaciones de la misma especie.

Loustalot *et al.*, (2014) evaluaron la germinación de semillas de *Ferocactus histrix* sometidas a escarificación e inmersión en ácido giberélico. Esto demostró que las semillas que fueron sometidas a escarificación presentaron una tasa de germinación más alta, al contrario de la inmersión en ácido giberélico, indicando que algunas especies de cactáceas probablemente requieren escarificación química, como pasa al ser ingeridas por animales dispersores. A su vez, las plántulas que fueron sometidas al ácido giberélico son las que tuvieron mayor volumen, confirmando el papel fundamental de esta hormona en el desarrollo de la plántula.

Contreras-Quiroz *et al.*, (2016) estudiaron ciclos de hidratación-deshidratación en nueve especies provenientes del desierto chihuahuense, demostrando que algunas especies germinan más después de eventos simples de hidratación-deshidratación, debido a los cambios fisiológicos producidos por la hidratación, y confirmando las observaciones de Dubrovsky (1996) y Sánchez *et al.*, (2005).

Es claro que algunos aspectos ambientales influyen en la germinación de las cactáceas, como la memoria de germinación, la presencia de luz, la temperatura, el estrés salino y osmótico entre otras. No obstante, cuando se realizan comparaciones entre especies de cactáceas, estas generalmente son entre especies distantemente relacionadas (Rojas-Aréchiga *et al.*, 2012). Solo a veces se realizan comparaciones entre especies cercanamente relacionadas (Loza-Cornejo, 2011), lo cual limita el

poder de las interpretaciones sobre los procesos adaptativos que pueden estar operando para generar diversidad. Es por eso que, es importante conocer los patrones de germinación en especies cercanamente relacionadas para poder inferir procesos adaptativos y de divergencia ecológica.

Algunos de los aspectos importantes en la germinación de semillas de cactáceas están relacionados con el ambiente, lo que implica que deben reunir características óptimas que le permitan su establecimiento. Una de estas características es que las semillas son fotoblástica positivas, lo que quiere decir que requieren luz para poder germinar, ya que de lo contrario su germinación es nula. Otra de las características es que requieren una temperatura arriba de 25 °C (Rojas-Aréchiga y Mandujano-Sánchez, 2017), que en el ambiente en el que se desarrollan es común. También se ven afectadas por la humedad que reciben, que si bien, ésta no es constante como para que la germinación se lleve a cabo de inmediato, las semillas tienen un mecanismo que les permite acumular humedad progresivamente, hasta que estén preparadas para germinar; esto también es auxiliado por las ornamentaciones presentes en la testa de la semilla, que ayudan a la acumulación de agua. Por otra parte, cada fruto produce una gran cantidad de semillas que aumenta la probabilidad de que alguna de ellas germine y que se establezca la plántula. A pesar de todo esto los patrones de germinación son diversos en todas las especies cercanamente y lejanamente relacionadas.

### 3.2 Crecimiento temprano de la raíz

La raíz es un órgano de suma importancia en el ciclo de vida de una planta. Este órgano tiene diversas funciones, entre las que se encuentran anclaje al suelo, función para almacenaje de agua y nutrientes provenientes del suelo, que se utilizarán para el cumplimiento de sus procesos metabólicos. Además, este órgano funciona como una barrera que impide la entrada de patógenos hacia el interior de la planta. Este órgano generalmente es subterráneo, con crecimiento gravitrópico. La raíz presenta caracteres morfológicos que permiten describir su arquitectura, la cual está definida por la configuración espacial de un complejo de subunidades (Lynch, 1995). Para las cactáceas, la configuración de esta arquitectura de la raíz es fundamental, ya que

ésta permitirá que la planta aproveche los escasos recursos disponibles en el suelo. No obstante, también se ha observado que, desde la germinación de las cactáceas, la raíz posee una gran plasticidad. A continuación, se hace un recuento de la literatura más relevante en el desarrollo temprano de la raíz, así como su anatomía y aspectos funcionales relacionados.

Dubrovsky (1997) demostró la relación que guarda la determinación de la raíz principal y la generación de raíces laterales. En dicho estudio se realizaron pruebas sobre plántulas de las especies de *Stenocereus gummosus*, *S. thurberi* y *Ferocactus peninsulæ*. Estas especies crecieron en condiciones controladas, en las que al formar la radícula demoraron de 2 a 3 días en generar una raíz principal, sin embargo, tuvieron un crecimiento similar las especies *S. thurberi* y *F. peninsulæ*. También observó que la elongación máxima tuvo una duración de 2 días después del inicio de la germinación. Finalmente, las células del meristemo apical se agotaron después de 60 horas, y una vez ocurrido esto, observaron la aparición de las raíces laterales. Así mismo, observó que en algunas de las raíces laterales también se determinaron y se presentaron ramificaciones simpodiales de la raíz, como un evento típicamente observado en muchas especies de cactáceas.

Dubrovsky *et al.*, (1998) demostraron que los ápices de las raíces de *Opuntia ficus-indica* que están expuestos a desecación, mueren al paso del tiempo. Sin embargo, luego de ser hidratadas las raíces principales, generaron raíces laterales después de ocho días. En dicho trabajo mostraron evidencias de que las raíces tienen un mecanismo adaptativo para las condiciones favorables y desfavorables en las que se encuentren. Además de que la conductividad hidráulica en las raíces desecadas rápidamente o gradualmente, decrece, mientras que las raíces rehidratadas incrementan su conductividad hidráulica debido a la emergencia de nuevas raíces laterales y crecimiento apical renovado, después de la desecación rápida.

Shishkova y Dubrovsky (2005) estudiaron la raíz de dos especies que se distribuyen en el desierto de Sonora, *Stenocereus gummosus* y *Pachycereus pringlei*. En dichas especies observaron que las raíces tienen un patrón de determinación de crecimiento de la raíz, en el que atraviesan por tres etapas: en la primera etapa, el meristemo, la zona de elongación y la de diferenciación sufren una reorganización; en la segunda etapa la raíz continúa creciendo, pero la actividad del meristemo decrece; por último,

en la tercera etapa se agota el meristemo apical de la raíz y la raíz se llena de pelos radicales. En el trabajo que realizaron, fue empleado un ensayo de TUNEL, ensayo utilizado para la cuantificación de la apoptosis celular, por medio de la detección de la fragmentación del DNA, principalmente con plántulas que ya habían pasado por las tres etapas antes mencionadas. En dicha prueba demostraron que la muerte celular programada no está relacionada con el agotamiento del meristemo apical de la raíz.

Loza-Cornejo *et al.*, (2017) realizaron un estudio para caracterizar la estructura anatómica-histoquímica y perfil fitoquímico cualitativo del tallo y de la raíz de *Mammillaria uncinata*. En dicho estudio mostraron que esta especie contiene metabolitos secundarios, similares a los de las demás especies de la familia Cactaceae. Además, encontraron cristales presentes en el córtex del tallo, similares a los de otras especies de la misma familia. También observaron la presencia de una cutícula lisa y delgada, que le ayuda a generar una barrera para hacer frente a las condiciones ambientales, con una epidermis uniestratificada y en su tejido cortical acumulación de granos de almidón y cuerpos lipídicos.

Un ejemplo de las diferencias entre especies en la arquitectura de la raíz es el de González (2020), trabajo en el que se contrastan diferentes especies del género *Mammillaria*, mostrando las dinámicas de crecimiento de la raíz. Se mostró en dicho estudio que hay diversidad en el género en varios aspectos de la arquitectura de la raíz y en las dinámicas de crecimiento.

Un último ejemplo de la variación entre poblaciones o localidades de la misma especie, es el de Santiago (2020). Dicho estudio mostró la variación que existe en la arquitectura de la raíz entre subespecies de *M. haageana* de diferentes localidades, contrastando los atributos de la longitud de la raíz, como son: longitud de la raíz principal, longitud de las raíces laterales, longitud de las raíces adventicias y longitud de las raíces basales. También observaron en dicha investigación la diversidad de ambientes en los que se pueden encontrar a estas subespecies. En el experimento al tener condiciones homogéneas de crecimiento se pudo observar claramente que existen variaciones entre los diferentes fenotipos.

Se puede decir que la raíz es un órgano de gran importancia ya que a través de este se aportan los recursos necesarios, relacionados con el desarrollo de la planta, desde

el inicio del ciclo de vida, cuando emerge la radícula. La radícula es el primer órgano que emerge de la semilla en el proceso de germinación, para anclarse al suelo y desarrollarse. Después la plántula establecida permanece un tiempo relativamente corto de aclimatación, en el que agota las reservas de nutrientes almacenados, para a su vez poder tomar los nutrientes y agua del suelo, que serán necesarios para su ciclo de vida. Conocer las raíces vegetales nos ayuda a comprender los procesos evolutivos y micro evolutivos, por los que atraviesa una planta, ya que el crecimiento que tiene la raíz es un indicativo del ambiente en el que se desarrolla, por lo tanto, se puede decir que existe una relación entre estos aspectos.

### 3.3 Desarrollo de la plántula

Una vez que la semilla se establece en el sitio en el que ocurrió la germinación y, por tanto, el lugar donde la planta pasará toda su vida, la semilla reúne todas las características necesarias para poder realizar el proceso de germinación, para dar cabida a la emergencia de la radícula y así finalmente comenzar el establecimiento de la plántula. En el caso de las cactáceas el desarrollo temprano de la plántula se conforma morfológicamente de dos cotiledones que en cactáceas son pequeños, y los cuales son visibles una vez que la plántula emerge de la semilla. El hipocótilo es más prominente y es el que le ayuda a la plántula a disponer de los nutrientes de reserva, mientras se desarrolla su raíz principal y la plántula pueda disponer de los nutrientes del suelo por sí misma. Gradualmente los cotiledones se hacen menos evidentes. Cuando los cotiledones empiezan a desaparecer, se empiezan a observar algunas areolas con diminutas espinas y se observan los tubérculos con sus areolas, como en el caso del género *Ariocarpus*. Así mismo, el tallo empieza a tomar su forma globosa, como en el caso de las especies de los géneros *Mammillaria*, *Echinocactus*, *Ferocactus*, entre otros.

Martínez-Berdeja y Valverde (2008) evaluaron la respuesta que tienen las plántulas bajo condiciones de humedad (5%, 25%, 60%) y radiación (100%, 40%), simulando las condiciones que existen con una planta nodriza. Evaluaron características como tasa relativa de crecimiento (RGR), relación raíz/brote (R/S) y K (RGR roots / RGR shoot), que se refiere a la relación entre la tasa relativa de crecimiento de la raíz y el

brote. Esto fue probado en tres especies: *Mammillaria pectinifera*, *Obregonia denegrii* y *Coryphantha werdermannii*. Al respecto se sugiere que las plantas nodrizas ayudan a mantener la humedad en el suelo en donde se establecen.

Loza-Cornejo y Terrazas (2011) estudiaron la morfo-anatomía comparada de plántulas de la tribu Pachycereeae; de esta forma pudieron diferenciar entre individuos juveniles y plántulas. En el estudio trabajaron con seis especies de la tribu. Con ello pudieron establecer que las especies presentan una anatomía similar. Observaron que la raíz principal no tuvo un crecimiento extenso, atribuido a su crecimiento determinado. Así mismo se puede decir que los caracteres morfológicos ayudan a determinar el límite entre plántula y planta.

Contreras-Padilla *et al.*, (2015) estudiaron los compuestos cristalinos que están presentes en *Opuntia ficus-indica*, identificando cristales de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), bi-carbonato de calcio-magnesio [ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ], óxido de magnesio (MgO), cloruro de potasio (KCl), entre otros. Estos resultados revelaron una estructura distintiva en cada uno de los tipos de cristales, teniendo así que los compuestos de carbonato de calcio mencionados con anterioridad, son de interés para los humanos y la industria.

Durante el desarrollo temprano de una planta se puede apreciar un cambio morfológico significativo, en el que adquieren características que les serán útiles a lo largo del ciclo de vida. En el caso de las cactáceas van desapareciendo sus cotiledones y surgiendo su epicótilo con tubérculos pequeños que a su vez producen areolas con espinas delgadas (Loza-Cornejo *et al.*, 2003). También desarrollan un sistema de raíces considerablemente complejo, que le permiten a la planta tomar los recursos necesarios provenientes del suelo para sobrevivir.

### 3.4 Estrés salino

Una de las limitantes que existen en los suelos es la poca disponibilidad de nutrientes, que son necesarios para su desarrollo. Debido a esta limitante las raíces han desarrollado formas de obtener recursos eficientemente, y también han generado formas en las que evitan ciertas sustancias provenientes del suelo. Ésto es de mucha

importancia ya que la raíz es la primera barrera que hay para evitar la entrada de sustancias nocivas para la planta. Sin embargo, en ocasiones los suelos en los que se desarrolla una planta, presentan cantidades excesivas de algún elemento o compuesto y de esta manera es que el desarrollo de la planta se ve perjudicado. Existen trabajos en los que se refleja de forma clara los acontecimientos ocurridos cuando las plantas se someten a la presencia de algún compuesto químico y se muestran a continuación.

Maggio *et al.*, (2001) hicieron una revisión en la que plantean la relación que tiene la raíz y su morfología, con la tolerancia a la salinidad y al estrés hídrico. Lo que encontraron fue que existen muchos genes asociados a los diferentes tipos de raíces y que estos se expresan dependiendo de la necesidad de la planta, todo esto mediante mutantes de *Arabidopsis thaliana*. Por ejemplo, el gen *Ird* (*lateral root development*) está bien reconocido, para regular el desarrollo de la raíz lateral en respuesta a señales ambientales, específicamente, altos niveles de sal.

Franco-Salazar & Véliz, (2008) sometieron a *Opuntia ficus-indica* a concentraciones de NaCl (0 mM, 50 mM, 100 mM y 150 mM), y observaron que las concentraciones que tuvieron un efecto negativo en esta planta fueron las de 100 mM y 150 mM, ya que disminuye el tamaño de los cladodios y la succulencia. También observaron que a mayor concentración de NaCl las raíces se necrosan y dejan de elongarse, ya que la raíz es el primer órgano en entrar en contacto con la salinidad que en este caso fue aplicada y en consecuencia afectó la biomasa y la formación de nuevos órganos.

Flowers & Colmer, (2008) en una revisión que hicieron sobre las plantas halófitas y la tolerancia a los ambientes salinos, encuentran que las plantas halófitas en general tienen una necesidad muy grande de regular las concentraciones celulares de iones de Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> y K<sup>+</sup> y del agua externa, a través de diferentes mecanismos; por ejemplo, en algunas especies el exceso de sales está regulado por glándulas que sirven para desechar y en algunas otras especies incrementan la succulencia.

Hameed *et al.*, (2009) realizaron un trabajo en el que comprobaron la respuesta de *Imperata cylindrica* de una población afectada naturalmente por suelos salinos proveniente de una región de Pakistán, y la compararon con otra de una región no salina; estas fueron sometidas a cinco concentraciones de NaCl (0 mM, 50 mM, 100

mM, 150 mM y 200 mM). Los resultados obtenidos revelaron que *I. cylindrica*, tuvo mayor biomasa que el ecotipo de la región no salina, y esto lo asociaron al incremento en la succulencia de la raíz y hojas, sin embargo, la densidad y tamaño de los estomas se redujo, probablemente para evitar la pérdida de agua.

Hasana & Miyake (2017), realizaron un trabajo en el que expusieron semillas de maíz (*Zea mays*) a concentraciones de 1%, 2% y 3% de NaCl, durante cinco días. Los resultados obtenidos fueron que la salinidad dañó levemente la anatomía de las raíces, además de tener una reducción drástica del número de cloroplastos contenidos en las células. También hubo afectaciones en la toma de nutrientes, ya que en las plantas sometidas a concentraciones de NaCl encontraron un alto contenido de Al, Ca, Mg, Fe, Na y Cl, mientras que B, K y P en bajas concentraciones.

En el trabajo de Rosas *et. al.*, (2021), en el cual participé como coautor (Anexo 11.2) mostramos el comportamiento que tienen plántulas de *Echinocactus platyacanthus* bajo condiciones de estrés salino, inducido por cloruro de sodio (NaCl), en concentraciones de 100 mM y 200 mM. Los resultados obtenidos en el experimento, revelaron que el crecimiento de la raíz y del brote de estas plántulas se redujeron considerablemente, en las etapas más tempranas del desarrollo, de los 41 a 69 días después de la siembra, sin embargo, fue claro que se redujeron drásticamente contrastados con el tratamiento control. También se descubrió que las plántulas que fueron sometidas a estrés salino presentaron raíces de tipo adventicias y basales persistentes en etapas del desarrollo a los 181 días después de la siembra, revelando que este tipo de raíces pueden ser muy importantes para la tolerancia al estrés salino.

Las adaptaciones de una planta para afrontar las condiciones desfavorables del ambiente en el que se desarrollan, son de suma importancia ya que son mecanismos que han ido evolucionando para su propio beneficio.

### 3.5 El género *Mammillaria*.

*Mammillaria* es uno de los géneros con más especies dentro de la familia Cactaceae. México es considerado como el centro de diversificación del género y aunque no es exclusivo del país, la mayor parte de las especies se encuentran en el territorio nacional. Las especies del género *Mammillaria* se distribuyen desde el sur de Estados Unidos, hasta Centroamérica y Sudamérica, sin embargo, en México existe una gran

cantidad de especies endémicas (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978; Flores y Manzanero, 2010; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Este género tiene especies morfológicamente diversas que se pueden distinguir con facilidad gracias a sus características, como flores a manera de corona cercanas al ápice, tubérculos formando series espiraladas de areolas, tubérculos con areola bipartida; en el ápice del tubérculo se localiza la espina y en la parte adaxial o axila del tubérculo se generan los brotes vegetativos, así como las flores (Hunt, 2006). A través de este género de plantas podemos estudiar la diversidad de raíces que tienen las especies.

Algunos autores han creado un registro de las cactáceas que se han descubierto a través de los años. En el caso de Hernández y Gómez-Hinostrosa (2015) registraron para el género *Mammillaria* 155 especies, mientras tanto Hunt (2006) registró un total de 232 entre especies y subespecies. Los registros muestran la alta diversidad que presenta el género *Mammillaria* dentro de la familia Cactaceae. En específico México presenta alrededor del 98.7% de especies de *Mammillaria* dentro del territorio nacional, de las cuales 88.2% son endémicas de alguna región (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

Por lo general las especies de *Mammillaria* habitan en lugares áridos y semiáridos, sin embargo, se pueden encontrar en sitios como, bosque de pino y encino como en el caso de *M. haageana*, aunque con menos frecuencia (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015; Sandoval, 2020), y la altitud a la que se pueden encontrar va de 0 msnm hasta 3250 msnm (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

Las características morfológicas de *Mammillaria* las distingue de otros géneros, a simple vista, como la presencia de flores formando una corona cercana al ápice, además forman series espiraladas y sus tubérculos tienen la areola bipartida o dimórfica, lo que quiere decir que en el ápice del tubérculo se localiza la espina y en la parte adaxial o axila del tubérculo se generan los brotes vegetativos, así como las flores (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Hunt, 2006).

En la cultura mexicana, las cactáceas se han hecho presentes desde tiempos prehispánicos. Por ejemplo, las cactáceas de tallos globosos como las de los géneros *Echinocactus* y *Mammillaria* eran llamadas comitl o huitznahuac y algunas tuvieron importancia en las prácticas religiosas (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). La

importancia que tienen las plantas en el ecosistema como en la humanidad se ve reflejada con dichos antecedentes. Un ejemplo de esto son las expediciones provenientes de España durante la colonia, que tuvieron el objetivo principal de conocer la morfología de las plantas y sus usos etnobotánicos, para así tener documentada la diversidad de la Nueva España y clasificarlas con el sistema Lineano (Montemayor, 2010). En el acervo de ilustraciones de “La Real Expedición Botánica a Nueva España” de Mociño *et al.*, (2010) fueron plasmadas plantas del género *Mammillaria*, además de ser registradas algunas ilustraciones de *Mammillaria haageana* (Fig. 3.6.1 y 3.6.2), en los que se aprecia la morfología de los tallos, de sus tubérculos y espinas, al igual que sus flores. Los registros que se hicieron con el propósito de conocer la flora son de gran relevancia ya que son la base de los estudios previos a la taxonomía y sistemática.

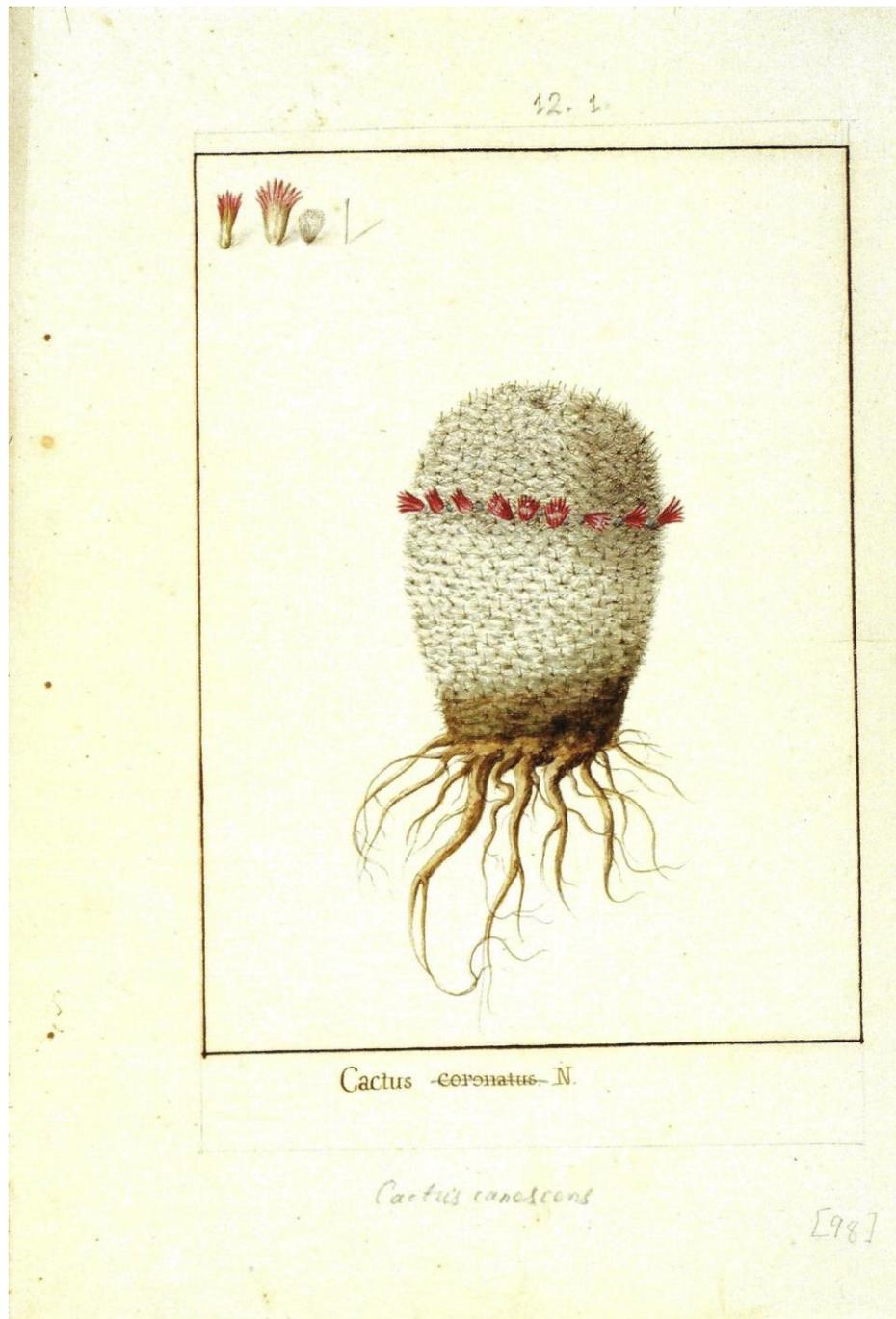


Figura. 3.6.1 “La Real Expedición Botánica a Nueva España” (Mociño *et al.*, 2010), tallo, raíces y flores, enfatizando la morfología de sus flores de *M. haageana*.

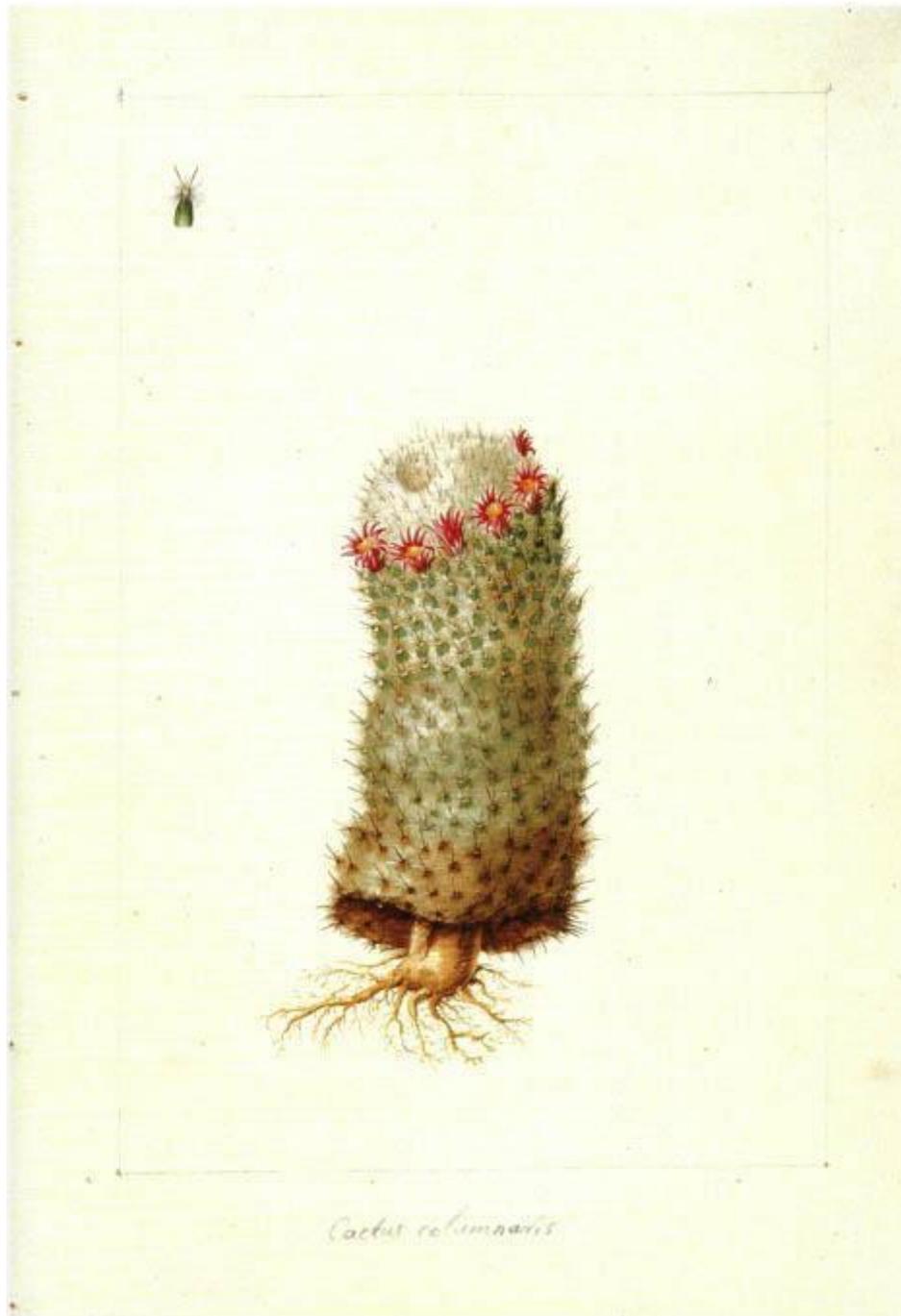


Figura. 3.6.2 “La Real Expedición Botánica a Nueva España” (Mociño *et al.*, 2010), tallo, raíces y flores, con énfasis en el tubérculo de *Mammillaria* sp.

Taxonómicamente hablando el género *Mammillaria*, está dividido en Series, aunque por sus características se puede decir que este género tiene un origen polifilético, dada la diversidad en sus tallos, flores y semillas principalmente (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Hunt, 2006). Una de las formas en las que se puede agrupar especies, como se mencionó antes es por su tallo, flores y semillas, en este caso se puede acudir a un clave para conocer a qué subgénero pertenece (Fig. 3.6.3).

CLAVE DE LOS SUBGÉNEROS		
A. Tallos con jugo acuoso.		
B. Semillas con estrofiolo. ....		A. <i>Phellosperma</i>
BB. Semillas sin estrofiolo.		
C. Fruto circuncísil. ....		B. <i>Bartschella</i>
CC. Fruto no circuncísil.		
D. Semillas con testa ligeramente tuberculada.....		C. <i>Mammilloidia</i>
DD. Semillas con testa más o menos foveolada o reticulada.		
E. Tallos delgados, cortamente cilindricos.....		D. <i>Leptocladodia</i>
EE. Tallos globosos.		
F. Tubérculos largos, suaves. ....		E. <i>Pseudomammillaria</i>
FF. Tubérculos cortos, duros.		
G. Flores grandes. ....		F. <i>Longiflora</i>
GG. Flores pequeñas. ....		G. <i>Chilita</i>
AA. Tallos conjugo lechoso, a lo menos en la médula.		
B. Hilo grande; aréolas alargadas con espinas pectinadas.....		H. <i>Solista</i>
BB. Hilo pequeño; aréolas no alargadas.		
C. Tubérculos largamente triangulares, persistiendo secos en la base del tallo. ....		I. <i>Porfirio</i>
CC. Tubérculos no largamente triangulares, caducos al secarse. ....		J. <i>Mammillana</i>

Figura. 3.6.3 Clave para la identificación de los subgéneros de *Mammillaria* (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991).

Recientemente los estudios moleculares filogenéticos han sido una herramienta de gran utilidad, para identificar parentesco entre especies cercanamente relacionadas, como en el estudio que realizaron Butterworth y Wallace (2004), donde utilizaron secuencias de DNA de cloroplasto, de 113 especies de *Mammillaria* y 2 grupos externos. Con los análisis realizados se confirmó que *Mammillaria* no es un grupo monofilético y *Mammilloidia* se encuentra en un grupo central de *Mammillaria*.

Así mismo hay variación dentro de cada una de las especies. La variación de cada una de las poblaciones está directamente relacionada al producto de las adaptaciones

que han sufrido a través de su historia evolutiva. Por su parte, se sabe que *M. pectinifera* ha sufrido de perturbación en el sitio de distribución y esto provoca que se restringen solamente a unas cuantas poblaciones, que fueron estudiadas por Maya-García *et al.*, (2017). En dicho estudio su principal objetivo fue determinar los niveles de diversidad genética de *M. pectinifera*, especie que ha sufrido una drástica disminución en sus poblaciones por diferentes causas, siendo una de las principales, el cambio de uso de suelo y la recolección para fines de comercialización. A través del uso de microsatélites nucleares pudieron observar una alta diversidad genética, a pesar de las limitaciones a las que ha estado sometida esta especie, sin embargo, se recomienda un plan para la conservación de esta especie, para evitar la pérdida de la estructura genética, ya que podría ser inminente.

Otro ejemplo es lo que observa Solórzano *et al.*, (2014), en el que mostraron los valores de diversidad genética, de las especies *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, los resultados obtenidos arrojaron niveles de heterocigosidad altos, con diferencias en su riqueza alélica, además observaron una diferenciación genética entre poblaciones los que sugiere como factor principal el aislamiento geográfico y la endogamia.

### 3.6 Serie *Supertextae*.

La serie *Supertextae* está conformada por ocho especies, estas se distribuyen principalmente en el centro de México (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Las especies de la serie *Supertextae* están estrechamente relacionadas a ambientes calcáreos (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

La diversidad de formas que presenta esta serie es amplia, ya que se pueden encontrar individuos que presenten características como tallos simples o cespitosos, con ramificaciones en el tallo y en el caso de *M. crucigera*, con dicotomía (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991). En general los miembros de esta serie taxonómica cuentan con las siguientes características: tubérculos pequeños, espinas radiales numerosas y espinas centrales rectas o curvadas, flores por lo general tienen de 10 a 12 mm de longitud, de colores que van del púrpura, rosa y amarillo (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991). A continuación, se muestran las especies que conforman la serie *Supertextae*.

*Mammillaria albilanata*: esta especie se distribuye en México desde Chiapas, Colima, Guerrero y Jalisco hasta Guatemala (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Tienen considerables variaciones en la forma de sus espinas y se reconocen cuatro subespecies: *albilanata*, *oaxacana*, *reppenhagenii* y *tegelbergiana* (Hunt, 2006). Su tallo globoso, es simple en casi todos los casos, llega a medir hasta 15 centímetros de altura, sus tubérculos pequeños, arreglados en 13 y 21 series espiraladas, espinas radiales de 15 a 20, sus espinas centrales son 2 por lo general, sus flores son de un color carmín que miden 7 mm, su fruto es de color rosa (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991).

*Mammillaria columbiana*: comprende dos subespecies distribuidas en puntos separados geográficamente; éstas se distribuyen en México en los Estados de Chiapas y Yucatán, estado del cual procede el nombre de la subespecie *yucatanensis* y en Honduras, Nicaragua, Venezuela, Jamaica y Colombia país del cual recibe el nombre la subespecie *columbiana* (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Se conforma por plantas simples o en colonia, tallos cilíndricos, axilas con lanosidad, espina central 2 a 7 de 6 a 8 mm, espina radial de 18 a 20 de 4 a 6 mm, flores pequeñas de color rosa, fruto de color naranja a rojo (Hunt, 2006).

*Mammillaria crucigera*: su distribución se restringe a los estados de Puebla y Oaxaca, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Comprende dos subespecies: *crucigera* y *tlaloci* (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015; Hunt, 2006). Su tallo es simple o dicotómico, tiene axilas con lana blanca, sus espinas centrales son 2 a 4 de 2 mm rígidas, las espinas centrales son de 16 a 30 de 1 a 2 mm, sus flores son pequeñas y de color purpúreo, las semillas son pequeñas (Hunt, 2006).

*Mammillaria dixanthocentron*: esta especie se distribuye en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en los estados de Puebla y Oaxaca (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Estas plantas presentan tallos simples de menos de 20 cm de altura, sus tubérculos miden hasta 6 mm, en las axilas presentan abundante lana de color gris o blanca que llega hasta la altura de los tubérculos, espinas centrales 2 de 5 mm, las espinas radiales son de 19 a 20 de 2 a 4 mm, flores de color rojo ligero, su fruto de color amarillento abajo y naranja por encima.

*Mammillaria flavicentra*: en general esta especie se distribuye en Oaxaca, sin embargo, también está presente en Puebla, lo que comprende el Valle Tehuacán-Cuicatlán (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Las plantas de esta especie presentan un tallo simple, cilíndrico-columnar de hasta 18 cm de altura, tubérculos en forma piramidal, sus axilas lanosas, presentan espinas centrales de 4 a 6 de 5 a 6 mm amarillentas, espinas radiales de 22 a 24 de 2 a 4 mm, sus flores son muy pequeñas de 3 a 4 mm de color rojo, su fruto es de color verde blanquecino en la base y de color rosa (Hunt, 2006).

*Mammillaria haageana*: ésta especie es muy variable morfológicamente ya que se conocen varias subespecies. Éstas se distribuyen ampliamente en los Estados de Puebla, Morelos, Veracruz, Oaxaca y Ciudad de México, donde está casi extinta la subespecie *M. haageana subsp. san-angelensis* (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Plantas simples comúnmente, aunque existen plantas que forman colonias, sus tubérculos son pequeños y apretados, sus axilas presentan lanosidad y en ocasiones cerdas, las espinas centrales por lo general son 2 divergentes, presenta espinas centrales de 15 a 25 de 3 a 6 mm, flores de 12 a 16 mm color magenta a rosa, frutos color rojo (Hunt, 2006).

*Mammillaria huitzilopochtli*: de igual manera esta especie comparte la distribución con las especies de la misma serie, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, se restringe al estado de Oaxaca. Está conformada por las subespecies *huitzilopochtli* y *niduliformis*, esta última en una localidad que pertenece al municipio de Tecomavaca, Oaxaca (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Son plantas de tallo simple cilíndrico de hasta 13 cm de altura tubérculos obtusamente terete-cónico de 6 mm, axilas provistas de una densa capa de lana en la zona floral, las espinas centrales son variables de 15 a 30 de color blanco brillante, sus flores son de 7 mm color carmín, fruto de 15 mm (Hunt, 2006).

*Mammillaria supertexta*: esta se distribuye al igual que las dos especies anteriores en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en los estados de Puebla y Oaxaca (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Principalmente presentan tallos simples sub globosos u oblongos, los tubérculos son pequeños y apretados, las areolas están casi desnudas, axilas son lanosidad, sus espinas centrales son 2 de 3 mm,

las espinas radiales son 16 a 18 de 5 mm, flor de 8 a 10 mm de rosa a rosa purpúreo (Hunt, 2006).

En lo subsecuente se referirá a estas especies de acuerdo con un acrónimo por simplicidad (Tabla 3.7.1).

Tabla 3.7.1 Acrónimo de las especies de la serie <i>Supertextae</i> del género <i>Mammillaria</i> .	
Especie	Acrónimo
<i>M. albilanata</i>	<i>M. alb</i>
<i>M. columbiana</i>	<i>M. col</i>
<i>M. crucigera</i>	<i>M. cru</i>
<i>M. dixanthocentron</i>	<i>M. dix</i>
<i>M. flavicentra</i>	<i>M. fla</i>
<i>M. haageana</i>	<i>M. haa</i>
<i>M. huitzilopochtli</i>	<i>M. hui</i>
<i>M. supertexta</i>	<i>M.sup</i>

Como se ha mencionado, las cactáceas son plantas que, por su distribución, en general en ambientes áridos y semiáridos, se encuentran bajo condiciones extremas, en las que su tallo y su raíz tienen un papel fundamental en el desarrollo de la planta, lo que sugiere que tienen estrategias que le ayudan a obtener y almacenar recursos de manera eficiente. El presente estudio plantea, conocer la germinación y crecimiento de la raíz en especies cercanamente relacionadas, de tal manera que se puedan establecer patrones de desarrollo de la arquitectura de la raíz, ya que al conocer el desarrollo de la raíz se pueden entender las estrategias que han originado como especie y puedan ser asociados con factores ambientales o evolutivos. Así mismo es importante entender el efecto del estrés salino en la configuración de la raíz, ya que, en un panorama amplio, esto nos sirve como antecedente en cuestiones ambientales de suelos salinos y en cuestiones de restauración con especies tolerantes a la salinidad.

#### 4. HIPÓTESIS

Al tener especies cercanamente relacionadas dentro de la serie *Supertextae*, es posible que exista un patrón en la germinación y crecimiento de la raíz. Sobre todo, se esperaría un desarrollo similar de algunos de sus caracteres, dadas las condiciones controladas del experimento.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

5.1.1 Analizar la germinación y el desarrollo temprano de la raíz de plántulas de siete especies del género *Mammillaria* de la Serie *Supertextae*.

### 5.2 Objetivos específicos

5.2.1 Caracterizar los patrones de germinación de seis especies del género *Mammillaria* de la Serie *Supertextae*.

5.2.2 Caracterizar las secuencias de desarrollo de la raíz en plántulas de siete especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

5.2.3 Determinar si existen patrones en el desarrollo de la raíz de las especies *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*.

5.2.4 Evaluar la respuesta del crecimiento de la raíz al estrés salino (NaCl) en la especie *M. flavicentra* del género *Mammillaria* de la Serie *Supertextae*.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Material biológico

Se obtuvieron semillas de siete de las ocho especies de la serie *Supertextae* de la colección biológica a cargo del Dr. Ángel Salvador Arias Montes, Curador de la Colección Nacional de Cactáceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología. Las semillas corresponden a especies del género *Mammillaria*, de las cuales se eligieron las correspondientes a la Serie *Supertextae*. Para la especie *M. haageana* se utilizaron semillas de campo de la colecta CC045, las cuales fueron obtenidas por la Biol. Itzel Arely Santiago Sandoval (Santiago, 2020). No se estudió *M. columbiana* porque no se encontraron semillas o plantas disponibles en la colección. Las semillas de *M. albilanata* se obtuvieron de colectas del M. en C. Cristian Cervantes realizadas en 2018. Las semillas de *M. albilanata* fueron una mezcla de semillas de siete frutos, de siete plantas, de cuatro localidades diferentes (Tabla 6.1.1), las cuales se tuvieron que reunir de esta manera, pues no estaban disponibles en la colección. También se obtuvieron datos de *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli* del estudio realizado por José de Jesús Sánchez González (González, 2020). Cabe destacar que todas las semillas utilizadas estaban almacenadas en bolsas de papel glassine. También se desconoce el año de colecta de algunas semillas, pero fueron obtenidas de la colección del Dr. Salvador Arias y su equipo de trabajo. La procedencia de las semillas está resumida en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1.1 Procedencias de las semillas.						
Especie	Acrónimo	Colector	Procedencia	Número de registro	Planta (s).	Fruto (s).
<i>Mammillaria albilanata</i>	<i>M.alb</i>	Cristian Cervantes / Itzel Santiago	Campo	CC036 CC043 CC044 CC046	3 5 1,5 1,3	1 1 1,1 2,1
<i>Mammillaria crucigera</i>	<i>M.cru</i>	Ángel Salvador Arias Montes	Jardín botánico	-	-	-
<i>Mammillaria dixanthocentron</i>	<i>M.dix</i>	Carmen Patricia Novoa Lara	Jardín botánico	CPNL133	3	5
<i>Mammillaria flavicentra</i>	<i>M.fla</i>	Carmen Patricia Novoa Lara	Jardín botánico	CPNL132	7	4
<i>Mammillaria haageana</i>	<i>M.haa</i>	Cristian Cervantes / Itzel Santiago	Campo	CC045	-	-
<i>Mammillaria huitzilopochtli</i>	<i>M.hui</i>	Ángel Salvador Arias Montes	Jardín botánico	-	-	-
<i>Mammillaria supertexta</i>	<i>M.sup</i>	Carmen Patricia Novoa Lara	Jardín botánico	CPNL121	-	-

## 6.2 Medios de cultivo

Se utilizó medio nutritivo MS (Murashige & Skoog) al 50% (Caisson Labs, Cat. MSP09-1LT), adicionado con sales MES (MP Biomedicals, Cat. 152454) al 0.05%, ajustado a un pH de 5.7, y agar (Sigma Life Science, Cat. A1296-1KG) al 1%. Para el tratamiento de estrés salino, se agregaron 50 mM y 100 mM de cloruro de sodio (NaCl) al medio. Una vez realizado el medio, se agregaron 75 ml a cada una de las cajas Petri cuadradas de 12 x 12 cm (Greiner Bio- One, Cat. 688102). Esto se llevó a cabo en la campana de flujo laminar (VECO, México) y se almacenaron las placas en un refrigerador a 4°C hasta su uso.

## 6.3 Desinfección de semillas

Las semillas se introdujeron en un tubo Eppendorf con una solución de hipoclorito de sodio comercial (Clorox) al 70%. Para desinfectarlas y se agitaron durante 5 minutos en un agitador de laboratorio. Una vez realizado este procedimiento se retiró el líquido desinfectante y a su vez se incorporó agua destilada al tubo Eppendorf para enjuagar las semillas; esto se realizó cinco veces para asegurar que no quedaran residuos de la solución desinfectante. Al final del último enjuague se agregó agar al 0.1 % para facilitar la siembra y adherencia de las semillas a las cajas Petri con medio.

## 6.4 Siembra y germinación de semillas.

Para la siembra se utilizaron 147 semillas de cada una de las especies señaladas con anterioridad. La siembra se realizó utilizando los métodos establecidos en el Laboratorio de Biología de Raíces: se colocaron ordenadamente en cada caja Petri 49 semillas, ordenadas por columnas y filas de 7 x 7, distribuidas en la caja. Esto se realizó por triplicado para cada una de las especies. Para que las semillas se adhieran a la superficie del medio MS, con una micropipeta se tomó cada una de las semillas con agar al 0.1 %. Las cajas se cerraron con plástico adherible (egapack) y se llevaron a la cámara de incubación (Percival Scientific, modelo CU22L), donde se mantuvieron de manera horizontal a 27°C, con un fotoperiodo 16 h de luz y 8 h de oscuridad. La germinación se registró cada dos días, hasta que la mayoría germinó.

### 6.5 Trasplante a cajas Petri.

Después de la germinación se seleccionaron 30 plántulas de cada una de las especies, cuyas características fueran similares entre sí, con edades similares (40-45 días de edad); éstas se colocaron en tres cajas Petri nuevas por especie, lo que significa que se distribuyeron 10 plántulas ordenadamente en cada una de las cajas Petri, en dos filas de cinco plántulas, de manera que tuvieran espacio suficiente para poder desarrollar sus raíces. Se les añadieron gotas de agar al 0.3 %, al brote y a la raíz, para mantenerlas pegadas a la superficie de las cajas Petri y así poder colocar las cajas de forma vertical, para simular el crecimiento de la raíz en condiciones habituales (Figura 6.5.1).



Figura 6.5.1 Plántulas trasplantadas en cajas Petri cuadradas en forma vertical (Santiago I, 2020).

### 6.6 Tratamiento de estrés salino inducido por cloruro de sodio (NaCl)

Para el establecimiento del experimento de estrés salino, a las cajas Petri con medio MS al 50 %, se adicionaron concentraciones de 50 mM y 100 mM de NaCl respectivamente. Luego se seleccionaron 20 plántulas para cada concentración de NaCl, con una edad similar (40-45 días), provenientes de las mismas cajas Petri de

la germinación mencionadas con anterioridad, y de esta manera cada una de las cajas contó con 10 plántulas distribuidas ordenadamente en dos filas (dos repeticiones por concentración). Igualmente, se le añadieron dos gotas de agar 0.3 % a cada una de las plántulas, para fijarlas a la superficie del medio MS, adicionadas con NaCl, teniendo como control a las plántulas de *Mammillaria flavicentra* del experimento principal. Finalmente, los tratamientos tuvieron una duración de 157 días.

### 6.7 Obtención de imágenes

Para realizar la medición de las raíces de cada una de las plántulas, fue necesario utilizar un escáner (Epson, modelo V600) para digitalizar la imagen de la placa a 1200 dpi (Dot Per Inch o puntos por pulgada). Las placas se escanearon semanalmente, durante un periodo experimental de 32 semanas. Una vez realizado esto, se almacenaron las imágenes en una plataforma digital (Figura 6.7.1), para después medir los caracteres de la arquitectura de la raíz con el programa de uso libre “ImageJ” (versión 1.49).



Figura 6.7.1 Caja Petri con el desarrollo de la raíz de plántulas de *Mammillaria albilanata*.

## 6.8 Medición de caracteres de la raíz

Cada uno de los caracteres (Tabla 6.8.2) fueron medidos con relación a la distribución espacial de las raíces, tomando como referencia cada una de las partes que conforman a la raíz (Fig. 6.8.1); para analizar el desarrollo de la raíz, es importante considerar cada sección de la raíz, se considera “x” como secciones de la raíz principal y de esta forma, x1 como el punto en donde surgió la raíz principal, hasta la primer ramificación de la raíz lateral (y1), x2 de la segunda ramificación a la tercer ramificación de la raíz lateral, x3 de la tercer ramificación hasta la punta de la raíz, después se considera “y” a las ramificaciones de la raíz lateral, teniendo así que y1 la primer ramificación, y2 la segunda ramificación, sucesivamente con todas las ramificaciones de raíz lateral. La LRA y LRB se miden por separado. Los resultados obtenidos se pueden analizar con el script de R creado en el Laboratorio de Biología de Raíces, para generar una base de datos y poder analizarla (Colchado-López *et al.*, 2019). Este script unifica las mediciones realizadas manualmente de la LRP, LRL, LRB y LRA, y genera otras mediciones como LRT, LTRL, nRA, nRB, nTRL, datos que se pueden analizar después, para generar los gráficos de caja y bigote. El análisis de los datos fue realizado en el programa R (versión 3.6.0), en el ambiente de trabajo de R-Studio (versión 1.1.463).

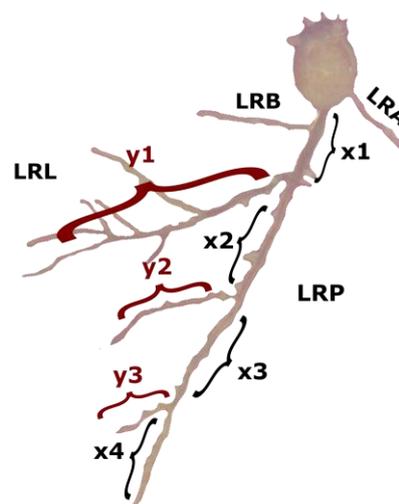


Figura 6.8.1 Caracteres de la raíz; longitud de la raíz principal (LRP), longitud de la raíz lateral (LRL), longitud de la raíz adventicia (LRA) y longitud de la raíz basal (LRB).

Tabla 6.8.2 Atributos de la raíz y sus acrónimos.

<b>Carácter de la raíz</b>	<b>Acrónimo</b>
Longitud de la Raíz Total	LRT
Longitud de la Raíz Principal	LRP
Longitud de la Raíz Lateral	LRL
Longitud Total de la Raíz Lateral	LTRL
Longitud de Raíces Adventicias	LRA
Longitud de Raíces Basales	LRB
Número de Raíces Adventicias	nRA
Número de Raíces Basales	nRB
Número Total de Raíces Laterales	nTRL

## 6.9 Análisis estadísticos.

Se realizaron gráficos de caja y bigote para observar el crecimiento de cada atributo de la raíz durante el periodo experimental. Para el porcentaje de germinación, se considera el número total de semillas germinadas de las tres réplicas, dividida entre el número total de semillas, multiplicadas por 100. Además, se aplicó el Índice de Velocidad de Germinación, que es abreviado como *IVG* (Maguire, 1962), método ampliamente utilizado. El índice de velocidad de germinación *IVG*:

$$IVG = \sum (ni/ti)$$

Dónde:

*IVG* = índice de velocidad de germinación

*ni* = número de semillas germinadas al día *i*

*ti* = tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla

El valor generado representa el vigor con que las semillas germinaron, lo que quiere decir que entre más grande es el valor mayor es el vigor de la germinación (Maguire, 1962).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Aspectos de la germinación en especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

Para tener una idea de la germinación entre las especies de la serie *Supertextae*, se realizó el siguiente análisis. De cada especie se sembraron 147 semillas en total de cada especie. La germinación se registró cada dos días durante 49 días. Se determinó como semilla germinada aquella en la que la radícula estuviera expuesta. Con los datos de germinación obtenidos se realizaron gráficos de los porcentajes de germinación acumulada de cada una de las especies (Fig. 7.1.1).

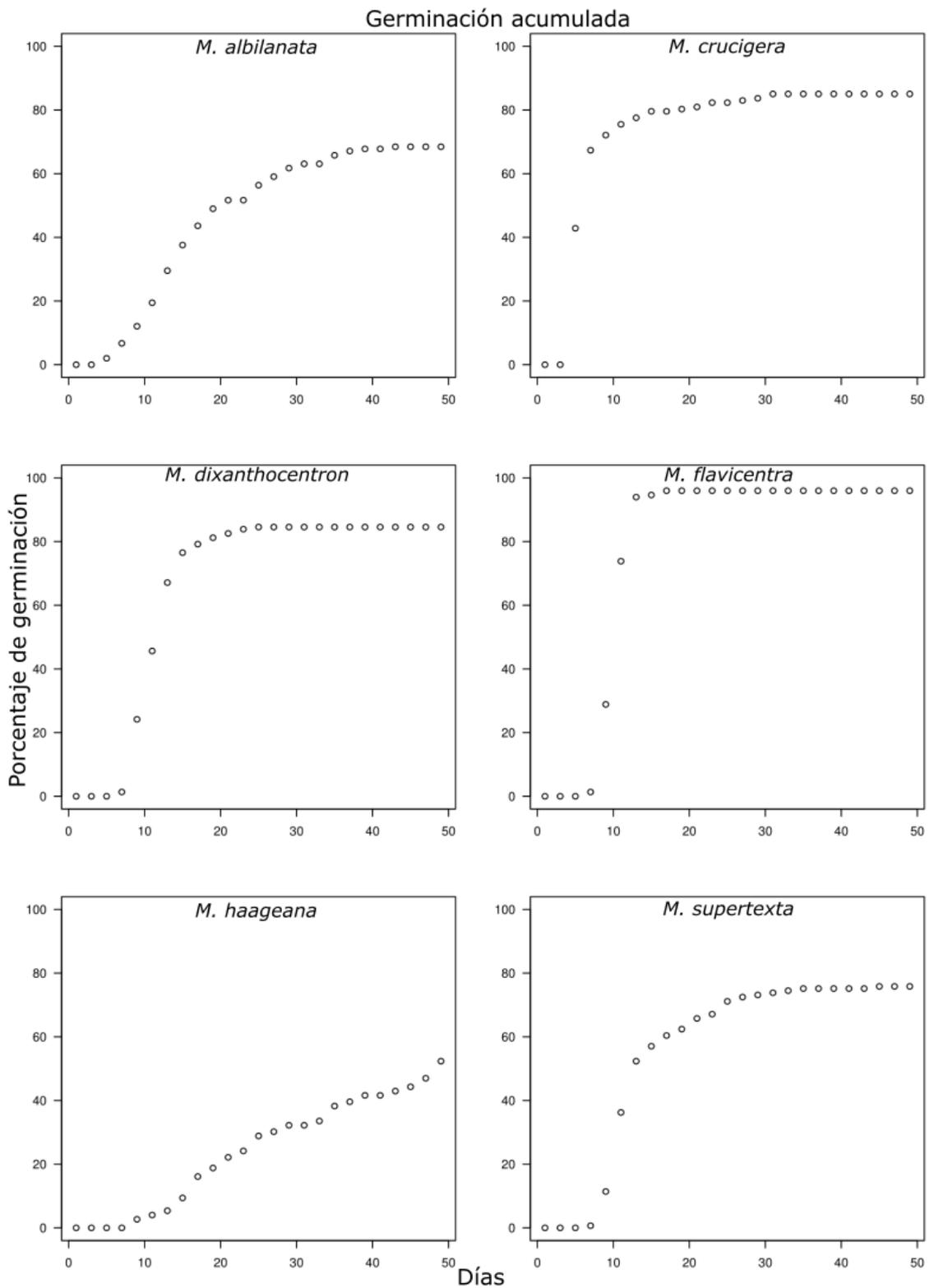


Figura 7.1.1 Porcentaje de germinación en especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*; *M. albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana* y *M. supertexta*, durante 49 días.

Se encontraron diferencias en la germinación de las semillas del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae* (Tabla 7.1.2). Las semillas de *M. albilanata* y *M. crucigera* empezaron a germinar en los primeros 5 días después de la siembra, seguidas de *M. dixanthocentron* y *M. flavicentra* que empezaron a germinar a los 7 días y por último *M. haageana* y *M. supertexta* comenzaron a germinar sus primeras semillas hasta los 10 días después de la germinación. En el caso de *M. flavicentra* que fue la especie con mayor porcentaje de germinación, se puede observar que rápidamente alcanza su máxima germinación a los 17 días, similar a lo que sucede con *M. dixanthocentron*, que alcanzó su máxima germinación a los 25 días. Por otro lado, hay un fenómeno que se puede observar en tres especies, en *M. albilanata* hay tres picos visibles en los que las semillas germinan a los 13, 25 y 35 días y *M. crucigera* que se nota en menor medida a los 5, 9 y 23 días (Fig. 7.1.1). También se puede identificar un fenómeno parecido en *M. haageana*, en el que hay un número significativo de semillas germinadas por día y luego disminuye y nuevamente incrementa y esto se repite a lo largo de los 50 días de toma de datos y los días en que ocurrió esto fue a los 9, 17, 25, 35 y 47 días. Por último *M. supertexta* tuvo su mayor germinación por día, a los 11 días, mientras que alcanzó su máximo de germinación hasta los 45 días.

Tabla 7.1.2 Parámetros de la germinación de seis especies de la serie *Supertextae*. *IVG*: Índice de Velocidad de Germinación, *PG*: Porcentaje de germinación, promedio de tres repeticiones. Número total de semillas sembradas por especie = 147.

Especie	<i>IVG</i>	<i>PG</i> (%)	Número total de semillas germinadas
<i>M. albilanata</i>	7.43	69.38	102
<i>M. crucigera</i>	19.72	85.03	125
<i>M. dixanthocentron</i>	10.98	85.71	126
<i>M. flavicentra</i>	13.42	97.27	143
<i>M. haageana</i>	3.53	53.06	78
<i>M. supertexta</i>	8.83	76.87	113

A pesar de tener una germinación total, mayor al 50% en todas las especies, en el *PG* y en el *IVG* se encontró una amplia variación entre las especies, por ejemplo, *M. crucigera* presentó un *IVG* alto en comparación con las otras especies, sin embargo, presentó un *PG* igual al de *M. dixanthocentron*, por su parte esta especie obtuvo 10.98 de *IVG*. La especie que tuvo menor *IVG* y *PG* fue *M. haageana*, que apenas y alcanzó el 53% de germinación. La especie *M. flavicentra*, alcanzó un *PG* de 97.27, siendo este el más alto en comparación con las otras especies. Por su parte *M. supertexta*

tuvo resultados que no se parece al de las otras especies, pero alcanzó un un PG de 76.87 y un *IVG* de 8.83. Cabe enfatizar que como se mencionó en la sección de métodos, la edad de las semillas no es conocida para todas las especies, lo cual es definitivamente un factor que puede influenciar la interpretación de estos resultados. No obstante, no dejan de ser útiles como referencia de futuros trabajos.

## 7.2 Desarrollo temprano de la raíz en especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

Durante el periodo experimental en que se desarrollaron los caracteres de la raíz, se pudo observar la diversidad que existe en cuanto a tipos de raíces. Estos caracteres muestran las dinámicas de crecimiento y la arquitectura de la raíz a grandes rasgos. En términos generales se puede observar (Figura 7.2.1), que las plántulas representativas de cada especie perteneciente a la serie *Supertextae*, producen diferentes tipos de raíces. *M. albilanata*, generó una raíz con una mayor longitud comparada con las demás representantes de cada especie. *M. crucigera* tuvo un crecimiento menor. *M. dixanthocentron* se observa que generó una raíz más de tipo basal, la cual comienza a ramificar en la parte inferior. Por su parte *M. flavicentra* generó una raíz adventicia que fue la que se desarrolló en mayor proporción, ya que llegó a generar varias ramificaciones secundarias. *M. haageana* interesantemente se ramificó muy pronto desde etapas tempranas y continuó a lo largo de la experimentación. *M. huitzilopochtli* generó un eje principal alargado y fue desarrollando raíces laterales mientras su raíz principal seguía creciendo. Por último *M. supertexta* tuvo una elongación de la raíz principal durante las primeras etapas de crecimiento y se ramificó en varias raíces laterales, esto se observó en la etapa a los 73 días, en una zona en específico.

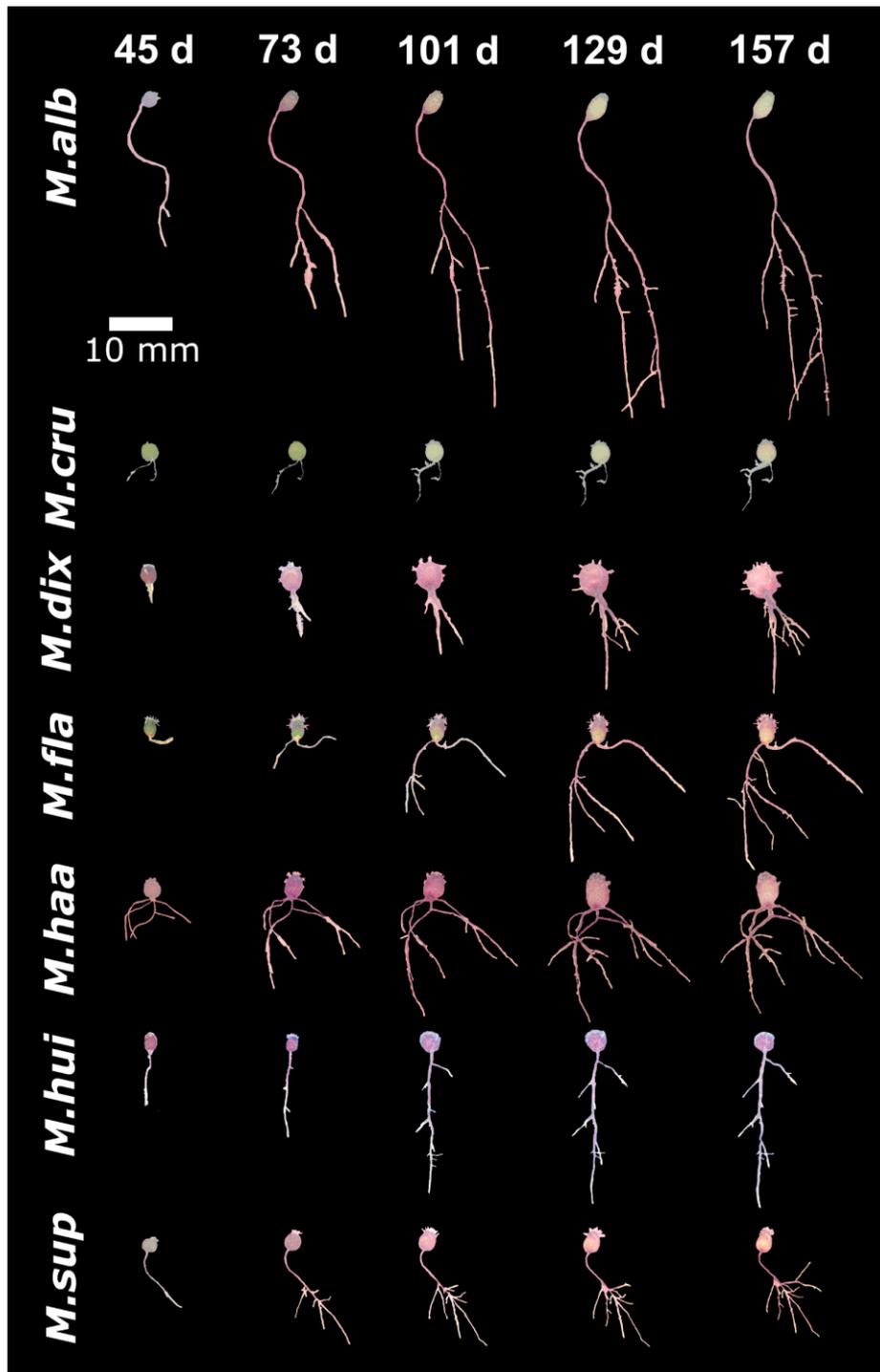


Figura 7.2.1 Desarrollo temprano de la raíz en especies de la serie *Supertextae* de 45 d a 157 d (días), después de la germinación. *M.alb*: *Mammillaria albilanata*; *M.cru*: *Mammillaria crucigera*; *M.dix*: *Mammillaria dixanthocentron*; *M.flu*: *Mammillaria flavicentra*; *M.haa*: *Mammillaria haageana*; *M.hui*: *Mammillaria huitzilopochtli*; *M.sup*: *M.supertexta*. Se muestra solamente una plántula representativa de cada una de las especies. Figura publicada en González-Sánchez et al (2021) (Anexo 11.1).

Longitud de la Raíz Principal (LRP)

Este atributo es el resultado del crecimiento del eje principal de la raíz de las plántulas, donde en todas las especies se observó una amplia variación en su longitud, además de estar presente en todas las plantas estudiadas.

En la LRP (Figura 7.2.2) podemos observar que *M. albilanata* tiene un crecimiento mayor al de las especies comparadas, teniendo como promedio 41.58 mm, mientras que *M. flavicentra* fue la especie de menor tamaño en este tipo de raíz, teniendo como promedio 4.84, estas dos en su última etapa de desarrollo a los 157 días. A pesar de estos resultados se debe mencionar que hubo algunos individuos que tuvieron un crecimiento mayor al promedio, llegando a medir hasta los 26.72 mm para el caso de *M. flavicentra*.

Se puede observar que hubo un crecimiento similar en la LRP de *M. crucigera* y *M. dixanthocentron*, ya que no se encontraron diferencias significativas en estas dos especies. Se obtuvieron longitudes en el cuartil uno (Q1) entre 5 mm hasta 15 mm en el cuartil tres (Q3). Otros casos en los que no hubo diferencias significativas fueron en las especies *M. supertexta* y *M. huitzilopochtli*, teniendo longitudes que alcanzaron los 13 mm en el Q1 hasta 21 mm en el Q3. En *M. haageana* se observó un promedio en su LRP de 21.81 mm.

Los gráficos de caja y bigote reflejaron la amplia variación que hay entre individuos de la serie *Supertextae*.

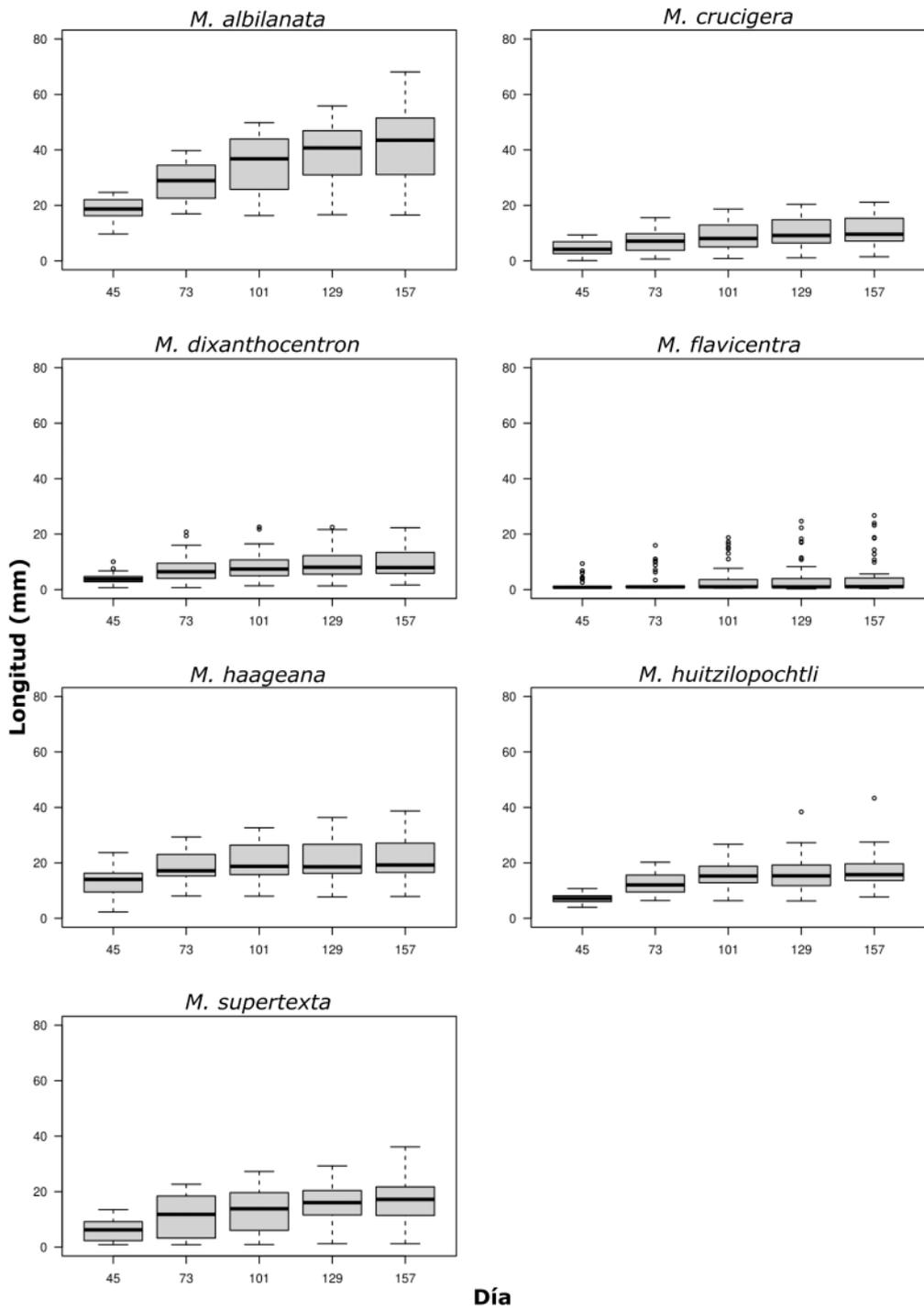


Figura. 7.2.2 Longitud de la Raíz Principal (LRP) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

## Longitud Total de las Raíces Laterales (LTRL)

Particularmente la LTRL es un carácter que se expresa en todas las especies de la serie *Supertextae*, donde se observó que es variable en los individuos de cada especie (Fig. 7.2.3). En el caso de *M. albilanata* este tipo de raíz se empieza a expresar desde etapas tempranas y se observa un ritmo de crecimiento constante hasta los 157 días, al igual que *M. haageana*, aunque en esta especie a los 157 días se logra ver como se estabiliza el crecimiento y se mantiene. Estas dos especies no tuvieron diferencias significativas y tuvieron longitudes promedio de alrededor de 20 mm.

Otras especies que no tuvieron diferencias significativas fueron *M. crucigera*, *M. dixanthocentron* y *M. flavicentra*, las cuales no sobrepasan los 5 mm de LTRL en el Q3, a los 157 días. En *M. crucigera* se nota una proliferación de este tipo de raíces hasta después de los 129 días de experimentación, y en el caso de *M. dixanthocentron* se observa la proliferación de estas raíces a los 101 días.

Para el caso de *M. supertexta* se puede ver un crecimiento en este tipo de raíz desde los 73 días y mantiene el crecimiento de 129 a 157 días.

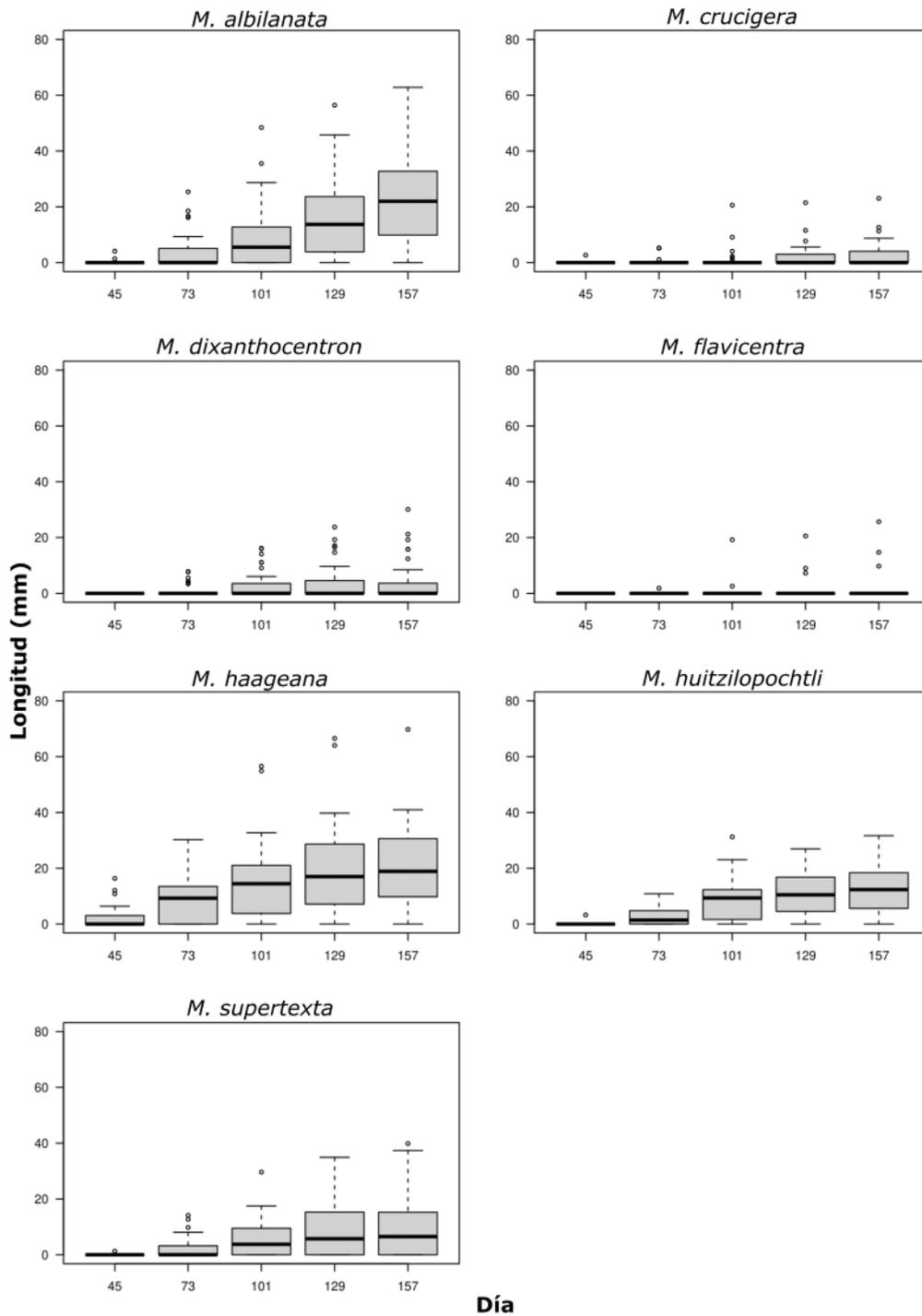


Figura. 7.2.3 Longitud Total de las Raíces Laterales (LTRL) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

### Longitud de Raíces Adventicias (LRA)

Este carácter se presentó con menos frecuencia y en algunas especies estuvo ausente, como es el caso de *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, y *M. supertexta* (Fig. 7.2.4). Por otro lado, las especies *M. haageana* y *M. huitzilopochtli* presentaron tres individuos con LRA con 17 y 13 mm de longitud máxima respectivamente y *M. flavicentra* fue quien presentó cinco individuos con este tipo de raíz, uno de los cuales presentó la raíz más larga, llegando a medir 30 mm. *M. crucigera* llegó a presentar hasta ocho individuos con esta raíz, con una longitud máxima de 18 mm de longitud.

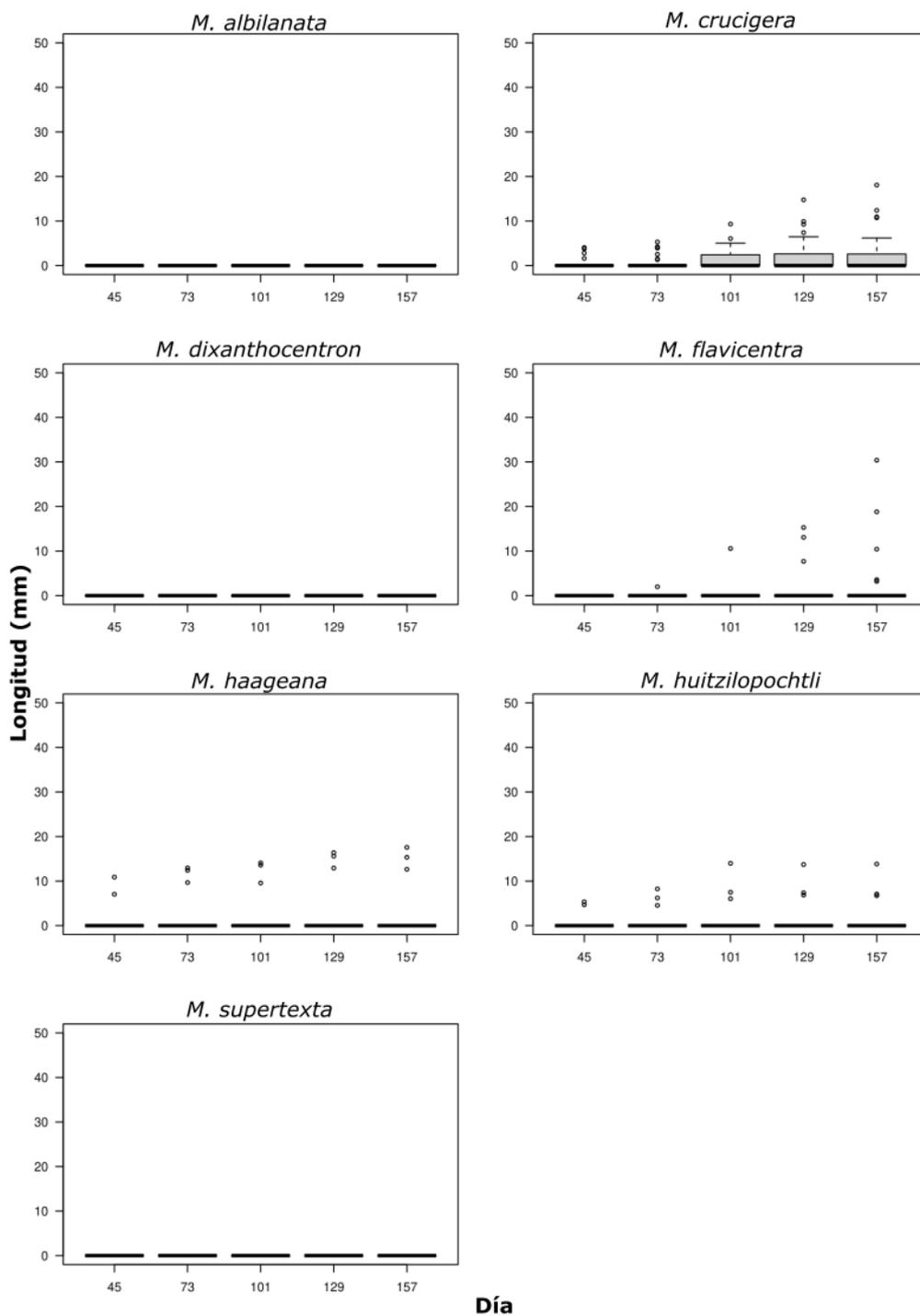


Figura. 7.2.4 Longitud de Raíces Adventicias (LRA) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

## Longitud de Raíces Basales (LRB)

La LRB es un tipo de raíces que se presentan de manera atípica en algunos individuos. Este tipo de raíces se caracteriza por emerger de la parte más cercana al brote en la raíz principal. En las especies de la serie *Supertextae*, en *M. haageana*, se presentan con mayor frecuencia en cada individuo. Esto podría ser indicativo de que este es el carácter de la arquitectura de la raíz que define a la especie (*M. haageana*), dentro de la serie *Supertextae* (Fig.7.2.5). Es decir, la LRB es un tipo de raíz que no se presenta uniformemente en las especies estudiadas, sin embargo, en *M. haageana* se puede observar que este carácter está presente desde etapas tempranas del desarrollo y en las últimas etapas de crecimiento a los 129 y 157 días se mantiene constante la LRB.

En *M. albilanata* este tipo de raíz se presentó en siete individuos de los cuales se observa que al menos uno de ellos tiene una longitud de 50 mm. Por otra parte, en *M. crucigera* se presentó en cuatro individuos, de los cuales el de mayor longitud mide 21 mm. La especie *M. dixanthocentron* presentó 4 mm de longitud en el Q3 y un crecimiento máximo de 16 mm. Por su parte en *M. flavicentra* únicamente hubo una observación de este tipo de raíz, la cual tuvo un crecimiento de 18 mm.

En *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* no se observaron diferencias significativas en la LRB y esta raíz se presentó en cinco y ocho individuos respectivamente.

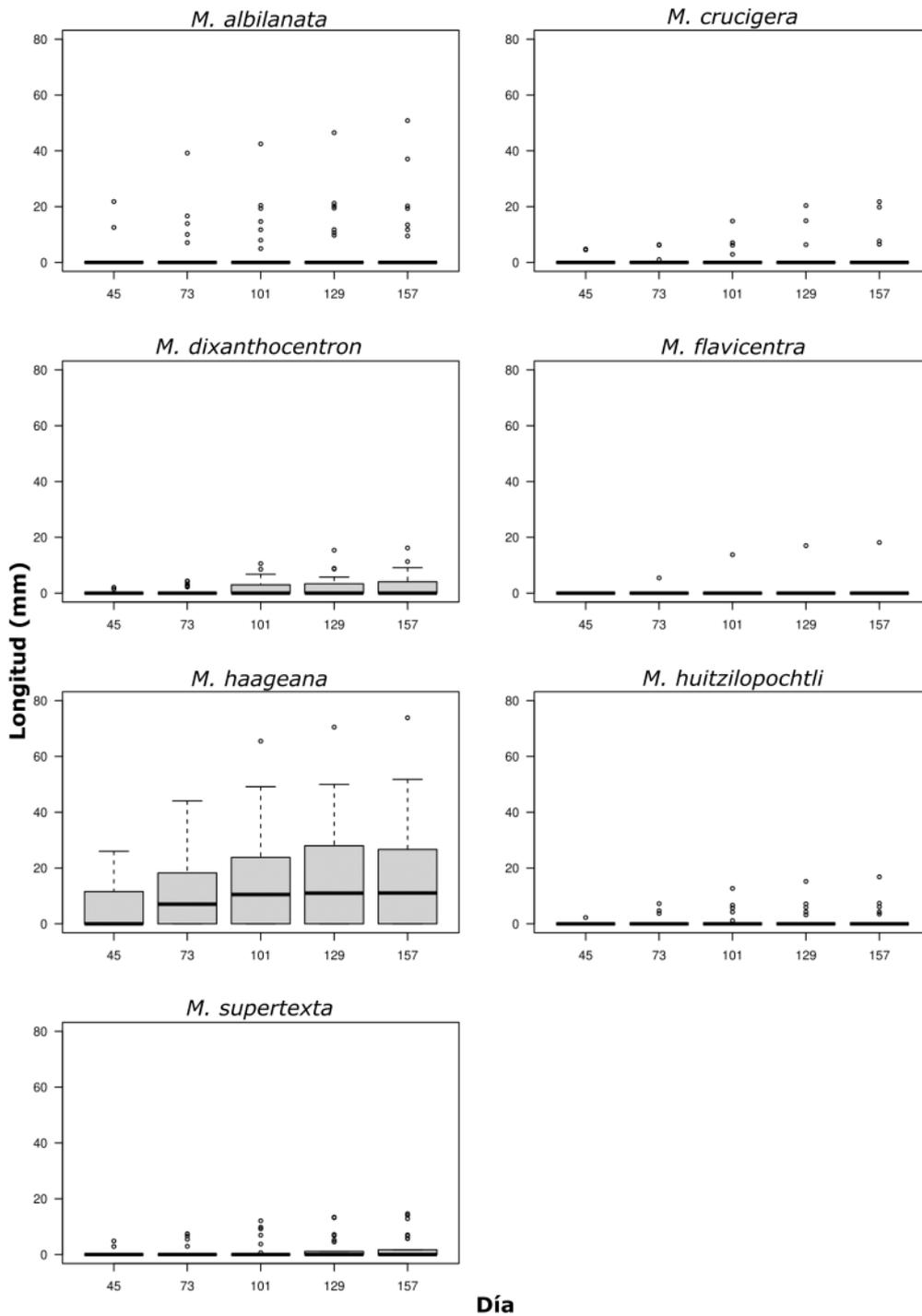


Figura. 7.2.5 Longitud de Raíces Basales (LRB) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

## Longitud de la Raíz Total (LRT)

La suma de todos los tipos de raíz que en conjunto conforman la arquitectura de la raíz, dan como resultado la LRT. Este carácter permite analizar las dimensiones generales de las dinámicas de desarrollo de la raíz, además dan un amplio panorama que permite comparar las especies. Al hacer esta comparación de las especies podemos observar una variación importante.

*M. albilanata* obtuvo longitudes entre 58 y 83 mm en su rango intercuartílico Q1 y Q3 respectivamente, llegando a tener individuos atípicos por encima del límite superior, llegando a los 138 mm de LRT y con individuos en el límite inferior de 25 mm; estos resultados se observan a los 157 días de crecimiento en el experimento. Otra de las especies que tuvo una LRT considerablemente mayor entre las especies estudiadas, fue *M. haageana*; esta especie en su última etapa de crecimiento a los 157 días obtuvo valores intercuartílicos Q1 y Q3 respectivamente de 47 y 74 mm, y también presentó valores de LRT atípicos, en este caso muy cercanos a los 150 mm.

Luego se encuentran las especies que obtuvieron menos de 50 mm en el rango intercuartílico, estas especies fueron *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* (Fig. 7.2.6.). Por su parte las especies *M. crucigera* y *M. dixanthocentron* tuvieron valores similares durante su desarrollo, no se encontraron diferencias significativas, y además, estas especies tuvieron un rango intercuartílico que va de los 9 a los 24 mm en los Q1 y Q3 respectivamente; estos valores se obtuvieron a 157 días de desarrollo.

*M. huitzilopochtli* durante las primeras etapas de crecimiento de los 45 a los 101 días, tuvo un crecimiento considerable, en seguida de 129 a los 157 días su crecimiento se estabilizó, llegando a tener valores en su rango intercuartílico de 24 a 38 mm y llegando a tener valores extremos atípico de hasta 66 mm. En general la LRT se mantuvo homogénea. *M. supertexta* obtuvo valores similares a los que se encontraron en *M. huitzilopochtli*, obteniendo valores en su rango intercuartílico cercanos a los 18 a 39 mm, además de tener individuos en el límite superior cercanos a los 59 mm de LRT.

Por último *M. flaviceentra* obtuvo menor LRT que las demás especies, esta especie se mantuvo por debajo de los 20 mm en su rango intercuartílico, sin embargo, tuvo individuos que alcanzaron una LRT de hasta 62 mm.

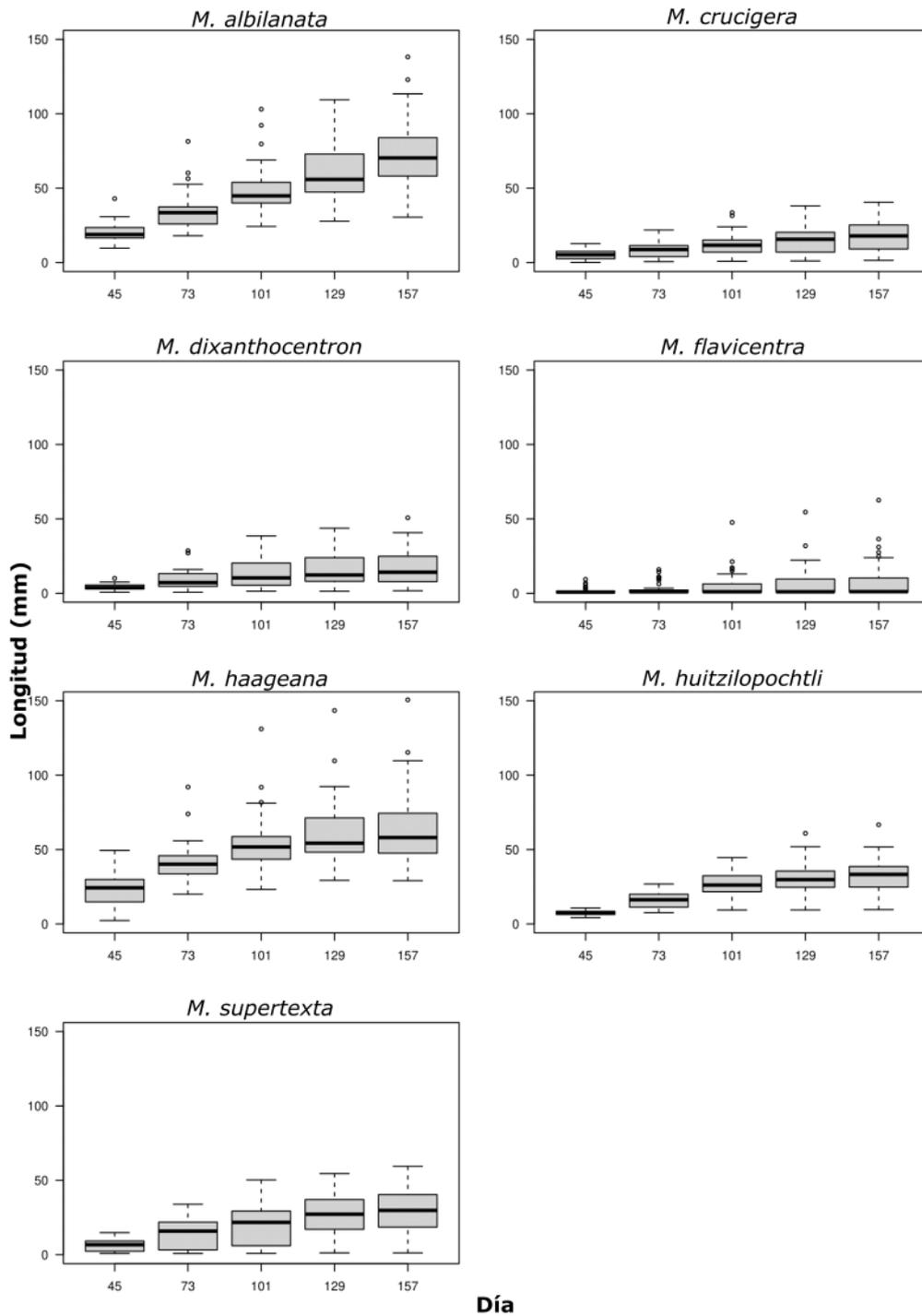


Figura. 7.2.6 Longitud de la Raíz Total (LRT) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

## Número de Raíces Adventicias (nRA)

Este carácter está ligado a la LRA, ya que en el caso de las plantas que presentan ese tipo de raíz, podemos observar en qué proporción de raíces lo hizo. El nRA es un carácter que se presenta en menor medida en las especies de la serie *Supertextae*, en *M. flavicentra*, *M. haageana* y *M. huitzilopochtli*, teniendo en promedio una raíz del tipo adventicia. El único caso que presentó nRA fue *M. crucigera*, en esta especie se presentó en promedio al menos dos ocasiones en algún individuo (Fig. 7.2.7). En las especies *M. albilanata*, *M. dixanthocentron* y *M. supertexta* no se presentó este tipo de raíz.

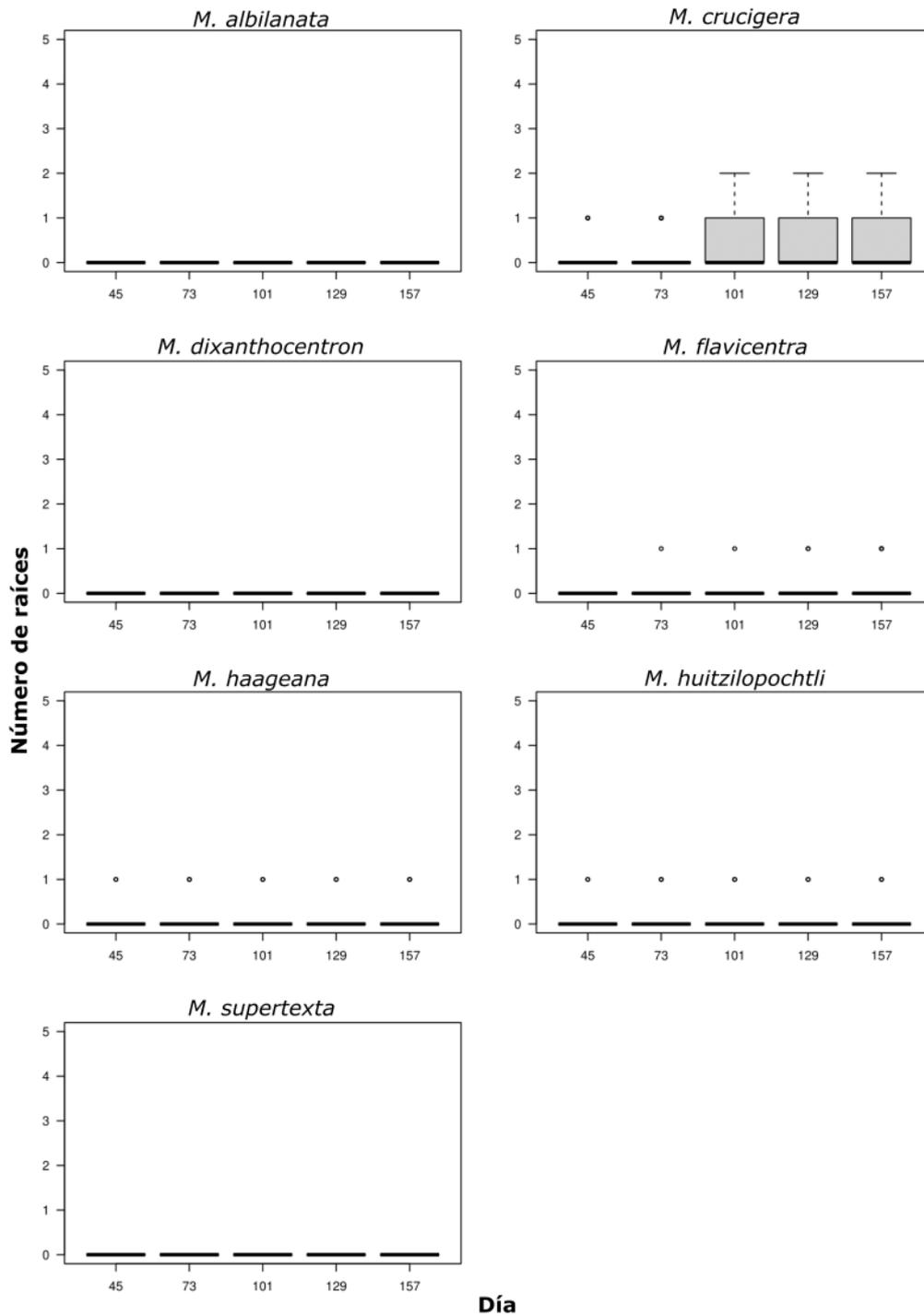


Figura. 7.2.7 Número de Raíces Adventicias (nRA) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

## Número de Raíces Basales (nRB)

El nRB es otro de los caracteres de la raíz que están presentes en las plántulas de la serie *Supertextae*. Es un carácter que se presenta de manera más recurrente en los individuos de dichas especies. Se puede observar que en las especies *M. crucigera*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, no se encontraron diferencias significativas en el nRB. Otro caso interesante es el de *M. dixanthocentron* que presentó en promedio una raíz basal, sin embargo, llegó a presentar al menos un individuo con 4 raíces de este tipo y *M. supertexta* que sólo presentó en promedio una raíz de este tipo por individuo. En *M. albilanata* se llegaron a observar solo algunos casos de una o dos raíces de este tipo. Por último *M. haageana* fue la especie que presentó más número de este tipo de raíces, teniendo en promedio en el Q3 2.75 nRB e individuos por encima de 6 nRB en algún individuo (Fig. 7.2.8).

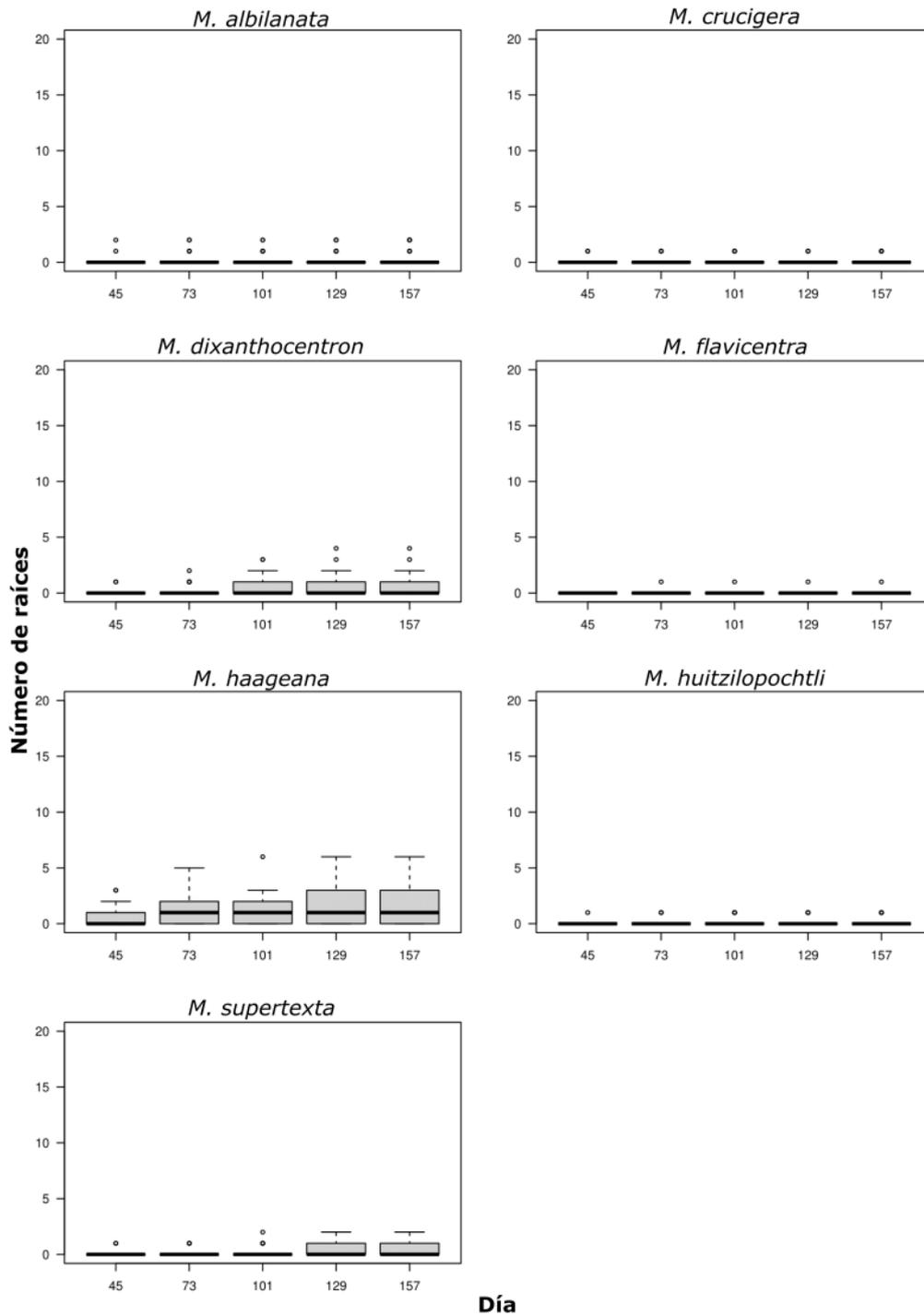


Figura. 7.2.8 Número de Raíces Basales (nRB) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

## Número Total de Raíces Laterales (nTRL)

El nTRL es otro resultado que nos permite ver de forma sencilla la proporción de raíces laterales generadas durante los días de desarrollo. Nuevamente se puede observar que hay especies que siguen un patrón similar en el desarrollo de este carácter, además de tener un número parecido de raíces de este tipo (Fig. 7.2.9).

En la especie *M. albilanata* se puede notar que las plantas presentaron en promedio tres nTRL por individuo, sin embargo, también se puede ver que hay al menos un individuo que presentó hasta 13 ramificaciones de este tipo. Estas ramificaciones comienzan desde etapas tempranas del desarrollo y van incrementando gradualmente a través de las semanas de experimentación. *M. crucigera* presenta una nTRL en alguno de los individuos en su Q3 y estas se empezaron a desarrollar en las últimas etapas a los 129 días. Para el caso de *M. dixanthocentron* llega a presentar hasta tres nTRL en su Q3 y teniendo un máximo de hasta ocho ramificaciones, teniendo un incremento considerable en su etapa de crecimiento a los 101 días. *M. flavicentra* se puede notar que presenta sólo algunos individuos de dos y tres ramificaciones, sin cambios aparentes desde que inició el experimento. *M. haageana* tiene un parecido a *M. albilanata*, en el comportamiento de su arquitectura de la raíz, sin embargo *M. haageana* presenta más ramificaciones en su nTRL, que se desarrollaron desde las etapas más tempranas de su desarrollo. *M. huitzilopochtli* por su parte tiene al 50 por ciento entre tres y cinco de su nTRL. Por último *M. supertexta* tiene en sus cuartiles Q1 y Q3 entre uno y cuatro ramificaciones, teniendo como máximo en alguno de sus individuos hasta nueve ramificaciones del nTRL.

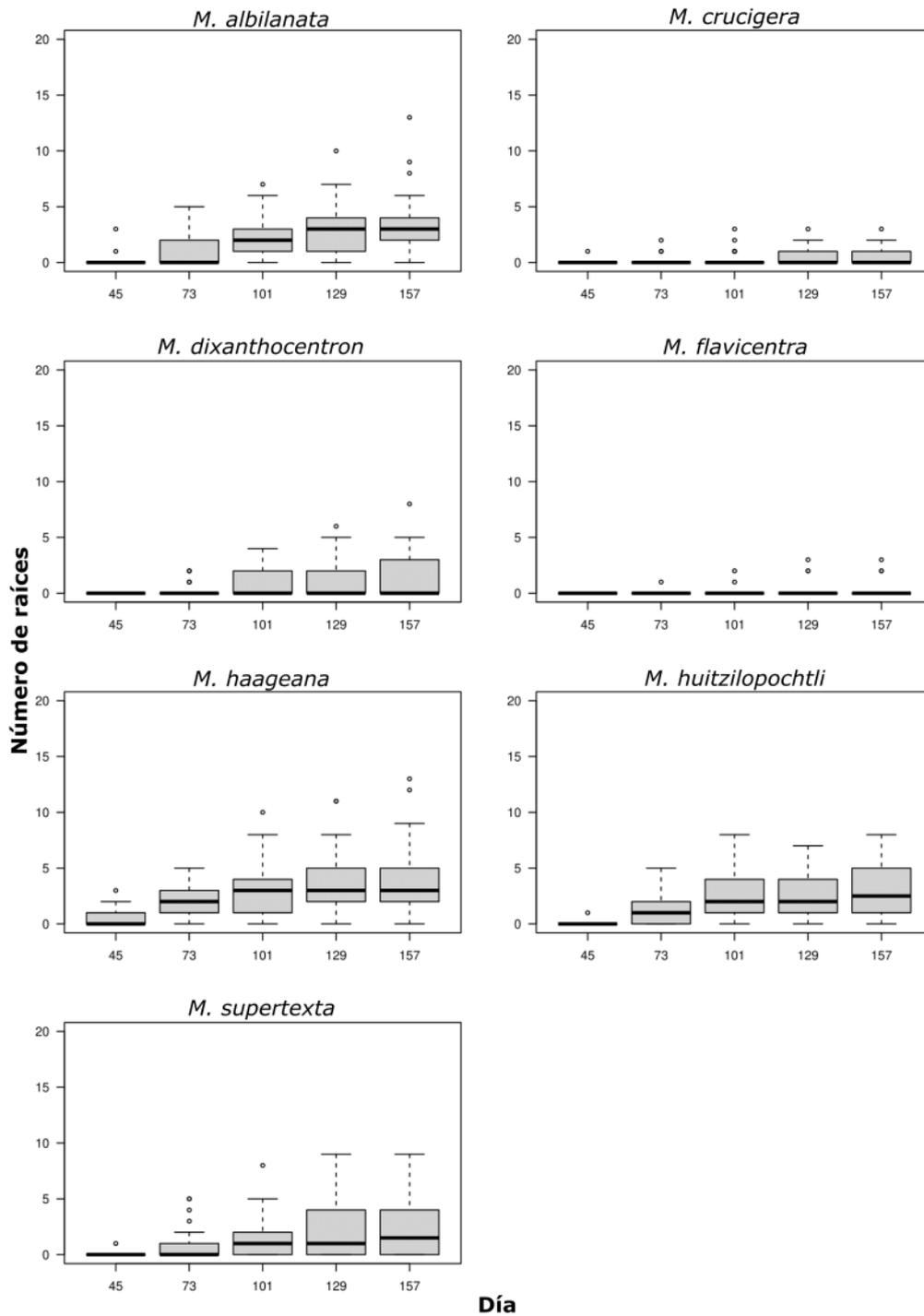


Figura. 7.2.9 Número Total de Raíces Laterales (nTRL) en plántulas de especies del género *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, durante 157 días.

### 7.3 Desarrollo temprano de la raíz de *Mammillaria flavicentra* bajo condiciones de estrés salino provocado por cloruro de sodio (NaCl).

El tratamiento de estrés salino se realizó en la especie *M. flavicentra*, a la que se le aplicaron dos concentraciones de cloruro de sodio 50 mM y 100 mM, respectivamente (Fig. 7.3.1). Los tratamientos de cloruro de sodio se contrastaron con un tratamiento control, que creció en las mismas condiciones experimentales que las demás especies de la serie *Supertextae* (Fig. 7.3.1).

Durante el periodo experimental a los 157 días se observó que las plántulas de los tratamientos que fueron sometidas a estrés salino, presentaron una disminución en el crecimiento de la raíz que se observa desde las primeras etapas del desarrollo.

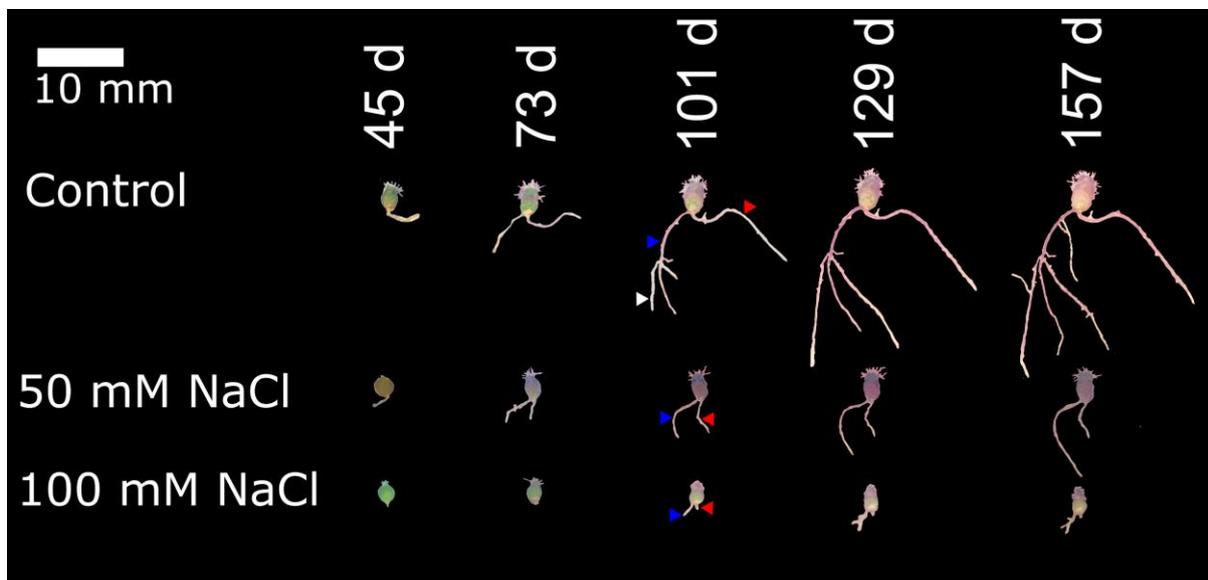


Figura. 7.3.1 Desarrollo temprano de la raíz en *M. flavicentra* bajo dos concentraciones de cloruro de sodio (NaCl). El triángulo de color azul muestra la LRA, el triángulo de color rojo muestra la LRP y el triángulo de color blanco muestra la LRL.

En el tratamiento de estrés salino con NaCl se observó un crecimiento continuo en el control de *M. flavicentra*, que por su lado se asemeja al tratamiento con 50 mM de

NaCl, mientras que el tratamiento con la concentración de 100 mM redujo su crecimiento considerablemente. También se puede observar que existe un momento en el que las plántulas reducen su crecimiento de la LRT en la etapa de crecimiento a los 73 días (Fig. 7.3.2.).

En la LRP del control se observan a los individuos en un rango intercuartílico menor a cinco mm, mientras tanto se pueden ver algunos individuos atípicos con una LRP de hasta 30 mm. Por su parte en los tratamientos de estrés salino se muestra una disminución en el crecimiento durante las etapas de desarrollo. Se observa una reducción en la longitud de la raíz, en el tratamiento de 50 mM a los 73 días de desarrollo. También hay ciertos periodos en los que el crecimiento se detuvo de los 101 días a los 129 días, hasta los 157 días que nuevamente se observó un crecimiento en la LRP. Por otra parte, en la concentración de 100 mM se observaron dos momentos importantes en la evolución del desarrollo de la raíz. El primer momento es a los 73 días; en este momento se observó una disminución en el tamaño de la LRP, con respecto al momento del trasplante a los 45 días. El segundo momento se observa a los 129 días; en este momento, los individuos atípicos empiezan a disminuir el tamaño de la LRP (Fig. 7.3.2).

En la LTRL se puede apreciar en general que este es un carácter atípico, ya que solo algunos de los individuos en los tratamientos y el control, presentan este tipo de raíces. Para el caso del control se puede observar la aparición de LTRL a los 73 días, en este caso constantemente van apareciendo individuos durante las etapas de desarrollo, hasta los 157 días. A pesar de no tener muchos individuos con este carácter, también se ve afectada la aparición de estas raíces por los tratamientos de estrés salino, en el caso de 50 mM y 100 mM. Para el caso de las plántulas sometidas a 50 mM de NaCl, se observa que estas raíces aparecen hasta los 101 días en lugar de aparecer a los 73 días como en el control, sin embargo, el individuo atípico, en el tratamiento de 50 mM, tiene un crecimiento continuo y nuevamente aparece otro individuo con este tipo de raíz en la etapa a los 157 días de desarrollo. En el tratamiento de estrés salino 100 mM podemos observar que la aparición de este tipo de raíz es hasta los 101 días, al igual que en el tratamiento de 50 mM, sin embargo, esta aparece con una menor LTRL, en este caso también podemos apreciar un

momento a los 129 días en el que se reduce su tamaño y nuevamente a los 157 días continúa con su crecimiento (Fig. 7.3.2).

La LRA es un carácter que está presente en los tres casos, en el control y tratamientos de 50 mM y 100 mM de NaCl, sin embargo, también fue atípico para esta especie. En el caso del control se puede observar que este carácter aparece a los 73 días de desarrollo y posteriormente continúa apareciendo en algunos individuos, a lo largo del desarrollo, llegando a tener cerca de 33 mm de LRA. En el caso del tratamiento de 50 mM podemos observar que hay un comportamiento parecido al del control, sin embargo, hasta la última etapa a los 157 días, hay un incremento de individuos con este carácter, con un rango intercuartílico de cero a 1 mm. Para el caso del tratamiento de 100 mM podemos observar que este carácter se vio afectado de manera considerable, ya que solo se encontró un individuo, el cual desarrolló este carácter hasta los 101 días de desarrollo (Fig. 7.3.2).

Por su parte en la LRB se puede observar este carácter presente en los tres casos, control, 50 mM y 100 mM. El control solamente tuvo un individuo con esta característica, el cual desarrolló una longitud de más de 15 mm. El tratamiento de 50 mM de NaCl generó más raíces de este tipo, a diferencia del otro tratamiento e incluso del control. El crecimiento de este carácter para este caso fue constante a lo largo de los 157 días de desarrollo, sin tener ninguna reducción en el crecimiento. En el caso del tratamiento 100 mM de NaCl hubo una menor aparición teniendo solamente un individuo con este carácter, al igual que el tratamiento control, sin embargo, este tuvo un menor crecimiento, se observa que, a los 101 días de desarrollo, tuvo un ligero incremento la LRB y permanece igual hasta los 129 días, de ahí se observa nuevamente un incremento en el tamaño de la LRB a los 157 días (Fig. 7.3.2).

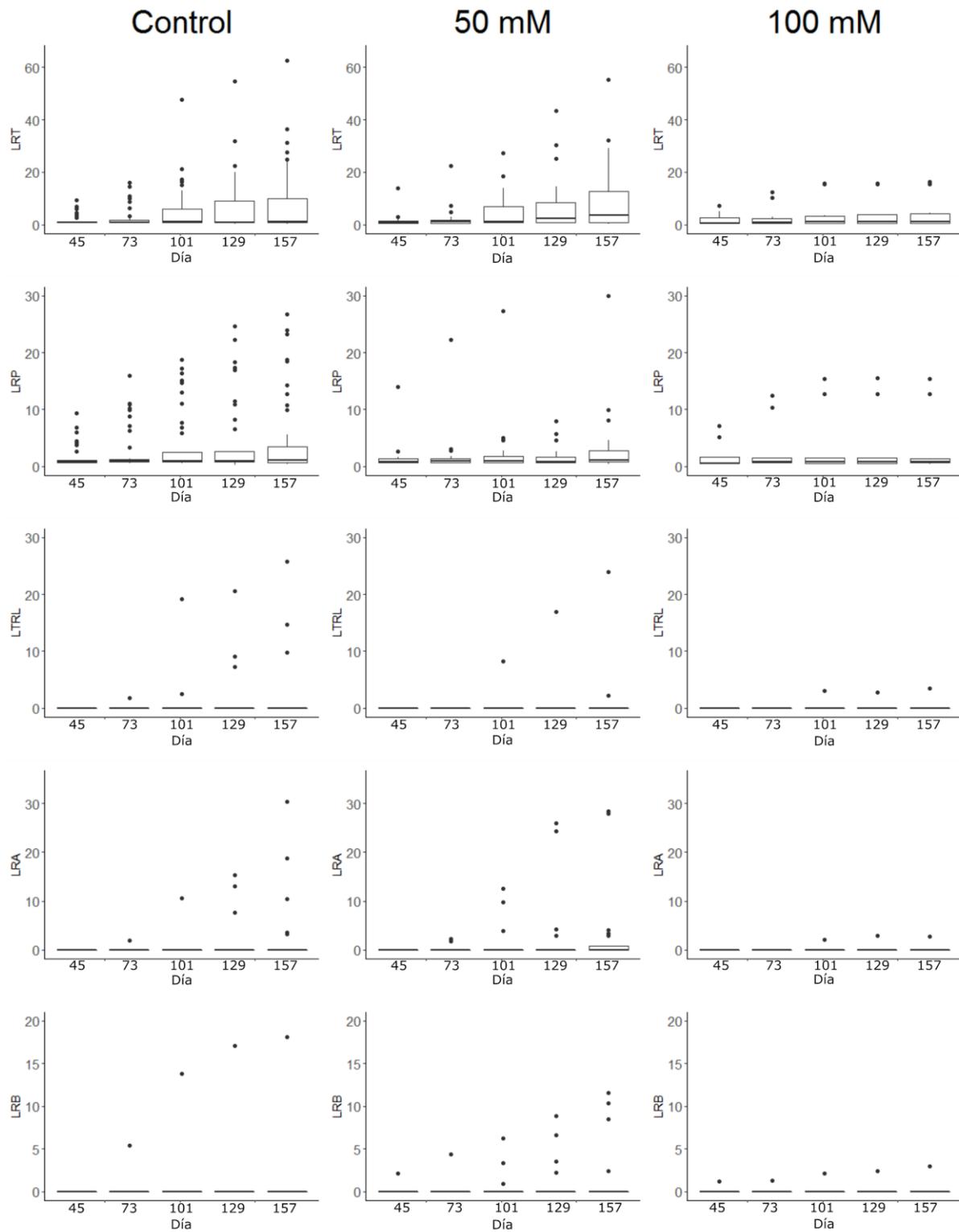


Figura. 7.3.2 Longitud de los diferentes tipos de raíces (LRT, LRP, LTRL, LRA y LRB) para los tratamientos de estrés salino y tratamiento control en *M. flavicentra*.

Para el nTRL, podemos observar que el número de estas raíces va incrementando a lo largo de 157 días de desarrollo, esto para el caso del control. Además se puede ver que de los 129 a los 157 días el nTRL se mantuvo constante. Para el caso del tratamiento 50 mM este carácter aparece por primera vez a los 101 días y va aumentando el nTRL. Para el tratamiento 100 mM de NaCl al igual que en 50 mM, aparecen a los 101 días de desarrollo, pero en este caso aparecen más raíces en ese momento, sin embargo, estas se mantienen hasta el final de los 157 días.

El nRA para el control, la aparición de este tipo de raíz es a los 73 días, y se mantiene igual hasta los 157 días. En el tratamiento 50mM aparecen al mismo tiempo que el control, sin embargo, estas incrementan su número a los 129 días. Por último, el tratamiento 100 mM, aparecen a los 101 días, pero también mantienen su número hasta los 157 días.

El nRB se mantuvo en todos los casos, sin embargo, este carácter aparece desde la primera etapa a los 45 días en el caso del tratamiento de 50 mM y 100 mM de NaCl y en el control apareció hasta los 73 días (Fig. 7.3.3).

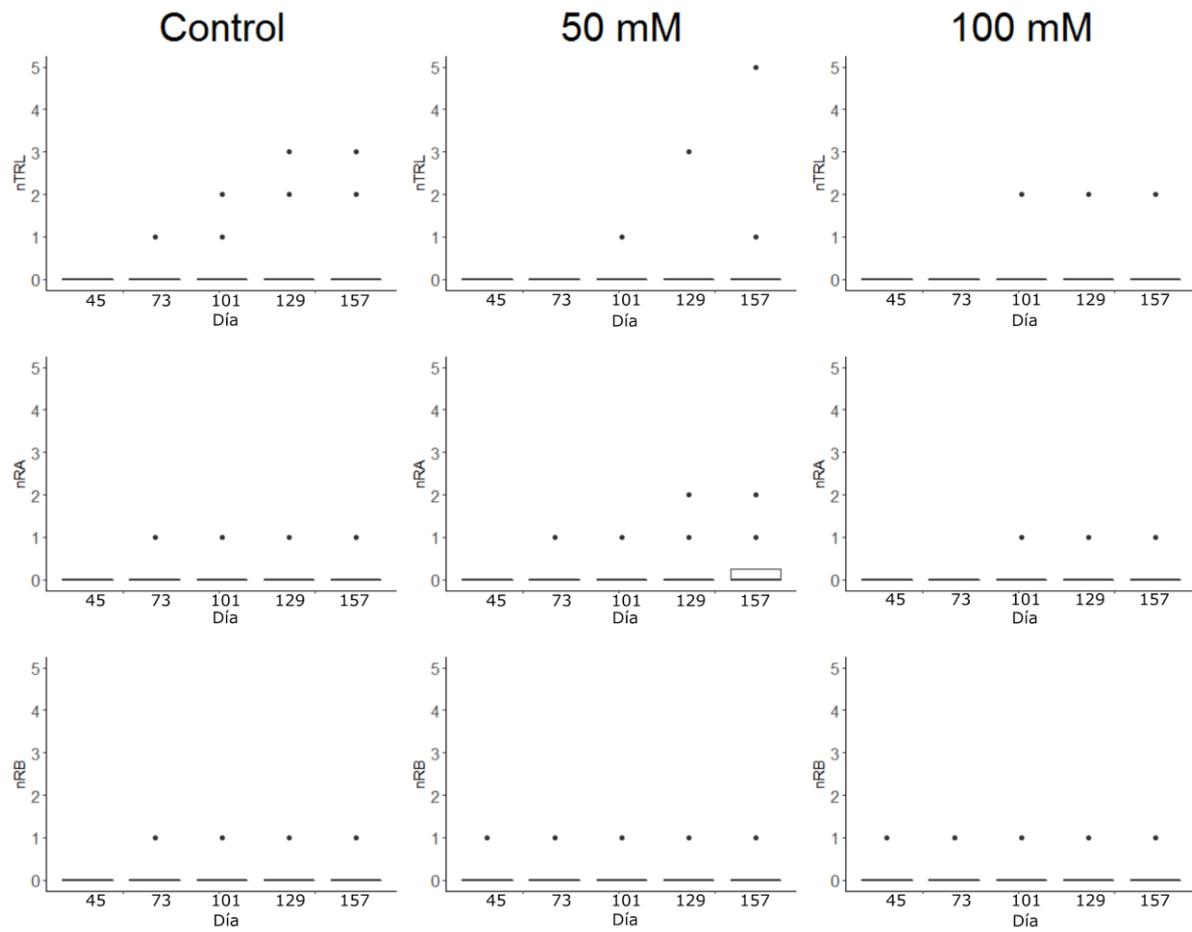


Figura 7.3.3 Número de raíces para los caracteres de nTRL, nRA y nRB en *M. flavicentra* en tratamientos de estrés salino y tratamiento control.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Germinación en especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

Los procesos de hidratación por los cuales atraviesan las semillas son de suma importancia, ya que generan una posibilidad de éxito en la germinación de cada individuo, ya que en el ambiente en el que se desarrollan pasan por procesos de hidratación-deshidratación (Dubrovsky, 1996), que desencadenan la rápida germinación. Los resultados aquí obtenidos prueban la rapidez con la que ocurrió el proceso de germinación, al tener las condiciones óptimas. En general todas las especies estudiadas tuvieron un porcentaje de germinación mayor al 50% lo que demuestra la alta capacidad de germinación y este resultado también refleja la forma en la que estas plantas aseguran su linaje con su alta capacidad de adaptación y su alta capacidad para permanecer en latencia durante los periodos desfavorables (Rojas-Arechiga y Mandujano-Sánchez, 2017).

La germinación de las especies de la serie *Supertextae* del género *Mammillaria* se produjo de forma regular, lo cual se puede comprobar con el *IVG* el cual indica la velocidad con la que se produce la germinación y en términos más simples, el vigor o fuerza con la que se realiza la germinación. A pesar de que este valor es muy variable entre las especies estudiadas, es que se puede intentar definir cuál es el motivo por el cual estas se comportan de esta manera, por ejemplo: la especie con el *IVG* más alto fue *M. crucigera*, sin embargo, esto no quiere decir que haya sido la especie con el mayor porcentaje de germinación de semillas. Al igual que pasó con *M. flavicentra*, *M. crucigera* fue la especie que obtuvo un mayor PG de entre todas las especies estudiadas y tampoco tiene un *IVG* alto en comparación con las otras especies. El *IVG* fue de utilidad para observar el comportamiento de la germinación con relación al tiempo y a la cantidad de semillas (Maguire, 1962).

Algunas de las razones por las cuales se está manifestando una diferencia en la respuesta germinativa, tiene que ver por lo que parece con el sitio en donde históricamente se distribuye cada una de estas especies, ya que, al estar sometidas a las mismas condiciones en el laboratorio, se reducen al mínimo los diversos factores a los que están expuestas las semillas en la naturaleza, como lo son la herbivoría,

sequía o radiación solar, entre otras. La germinación que se observa en *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. supertexta*, pueden estar reflejando la distribución de estas especies, la cual es en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, donde la precipitación es rara; por otra parte, *M. haageana* y *M. albilanata* provienen de ambientes semi-áridos. Así mismo, estas dos especies tuvieron los porcentajes de germinación más bajos. Se especula que esta diferencia en la germinación entre estos dos grupos de especies podría estar determinada por los ambientes donde se distribuyen. Estos valores nos ayudan a relacionar la germinación con el ambiente en donde se desarrollan, así como la relación que tiene con la arquitectura de la raíz. Por ejemplo *M. albilanata* presenta dos momentos en los que la germinación crece de manera considerable, hasta el momento que ya no presenta germinación alguna, hacia los 50 días. Un fenómeno parecido se observó en *M. crucigera*, así mismo en *M. haageana*, en esta especie es más visible este fenómeno, ya que se presenta más de dos ocasiones y por último en *M. supertexta*.

En su conjunto estos resultados de germinación son interesantes y abren nuevas preguntas de investigación para entender la evolución de las historias de vida, con respecto al ambiente. Sin embargo, es de notarse que los resultados que se presentan en esta tesis, tienen que tomarse con cautela pues en estos experimentos no se controló el origen y edad de las semillas, lo cual seguramente afecta las dinámicas de germinación.

## 8.2 Desarrollo temprano de la raíz en especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

El desarrollo de la raíz que se generó en las especies estudiadas es más variable de lo que se esperaba, por ser linajes cercanamente relacionados. Cada uno de los diferentes tipos de raíces fueron de utilidad para analizar a cada especie. El desarrollo de la raíz nos da un preámbulo de las estrategias que utilizan las plantas para sobrevivir a las condiciones ambientales, y son antecedente de la evolución por la que han pasado a través de su historia de vida, y las adaptaciones que han adquirido, que se dieron principalmente por la necesidad de sobrevivir y mejorar la forma en que obtiene recursos de su alrededor. Las raíces poseen un sistema complejo que les permite solventar muchas de las carencias. Parte de estas estrategias en su morfología, han sido la generación de raíces tuberosas, como en el caso de especies

del género *Ariocarpus*, *Lophophora*, entre otras. Sin embargo, existen otro tipo de raíces que están presentes en las cactáceas de otros géneros, como: *Echinocactus*, *Ferocactus*, *Mammillaria*, entre otros; en el caso de estos géneros las especies por lo general presentan raíces de tipo fibrosas, que le dan a la planta características como soporte, mayor área de contacto, recepción de agua y nutrientes a través de sus raíces más finas y diversas características que aumentan la eficiencia y complejidad de este órgano. Por este motivo en este estudio se empleó una técnica que cuantifica la raíz, de manera que se pudieran observar los distintos atributos de esta.

Un aspecto interesante en el desarrollo de la raíz de estas especies fue la diversidad con la que se generaron. Debido a que las condiciones experimentales fueron homogéneas, se esperaba un desarrollo muy similar ya que son especies cercanamente relacionadas, sin embargo, esta característica nos puede hablar de la diversidad de ambientes o microambientes en los que se desarrollan, que han generado en cada una de las especies la arquitectura de la raíz. Queda por dilucidar a qué se debe la variación en la arquitectura de la raíz. Es decir, dicha diversidad está explicada por procesos adaptativos, o por procesos estocásticos como los que se han reportado para otras especies de *Mammillaria* (Solorzano *et al.*, 2014).

La LRT nos da un panorama amplio de la variedad de raíces que presenta la planta. Con esta información se puede especular cuáles son las condiciones que enfrentan las plantas en su ambiente natural. Por ejemplo, en *M. albilanata* predomina el desarrollo de la LRP, sugiriendo que esta especie desarrolla más esta raíz para obtener agua de zonas más profundas en el suelo, a diferencia de las demás especies. Otro de los aspectos interesantes que se pudieron expresar en las plántulas es que en el caso de *M. haageana* hay una clara inclinación al desarrollo de raíces laterales, y esto se puede comprobar con el nTRL. La especie que más se le asemeja en este sentido es *M. albilanata*. Otro aspecto importante que se puede destacar de esta investigación es la formación LRB. Este tipo de raíz es más evidente en *M. haageana*, y esto podría estar influenciado por el ambiente original en el que se desarrollan estas especies, constituidos por suelos poco profundos y principalmente estas raíces contarán con la función de la obtención de recursos de las zonas menos profundas del suelo, en donde la obtención de agua y de elementos nutritivos es más próxima. La LRA es un tipo de raíz que, si bien no está presente en todas las especies,

es importante ya que este tipo de raíces se ha observado que funcionan también para el anclaje, de igual forma para la obtención de recursos poco profundos. Todos estos tipos de raíces que forman en su totalidad a la arquitectura de la raíz, se puede comparar y así demostrar el sistema de raíces que se forma a etapas tempranas del desarrollo, esto es de utilidad para conocer principalmente la proporción de cada uno de los tipos de raíces e inferir acerca de su hábito de vida. En su conjunto, la microevolución de estos tipos de caracteres también ha sido discutida en el contexto de otras investigaciones paralelas, en las cuales fui partícipe y publicado en un artículo de investigación (Anexo 11.1).

### 8.3 Desarrollo temprano de la raíz de *Mammillaria flavicentra* bajo condiciones de estrés salino provocado por cloruro de sodio (NaCl).

*M. flavicentra* fue sometida a estrés salino inducido por cloruro de sodio. El estrés generado por este compuesto es uno de los más comunes en todo el mundo y afecta principalmente a la agricultura (Xu *et al.*, 2010). Sin embargo, es un problema que afecta a cualquier planta que se encuentre en suelos con exceso de este compuesto y aunque existen plantas que tienen adaptaciones para sobrevivir a estos ambientes hostiles su desarrollo se ve afectado, el órgano que se ve afectado al principio es la raíz (Reinhard y Rost, 1995). En el caso de *M. flavicentra* se pudo observar que, al estar en un medio adicionado con NaCl, su desarrollo se vio perjudicado, principalmente en el desarrollo de la LRP. Este fenómeno lo observó Dubrovsky y Gómez-Lomelí (2003), en plántulas de *Pachycereus pringlei*; en dicho estudio el estrés hídrico, provoca la rápida determinación de la raíz primaria. Los resultados obtenidos para este estudio revelaron que la raíz de las plántulas sometidas a estrés salino provocado por cloruro de sodio (NaCl), afecta principalmente el desarrollo de la raíz primaria, ya que su crecimiento se detuvo casi por completo en el caso de 100 mM. Posiblemente esta sea una estrategia que utilizan las especies que están en contacto con este compuesto, ya que se afecta la toma de agua (Shishkova *et al.*, 2013). Por otro lado, hubo dos caracteres que se desarrollaron pronunciadamente en esta especie al estar sometida a este estrés: esta fue la LRA y LRB, que posiblemente sea otra estrategia para contrarrestar los efectos que tienen el exceso de este compuesto. Finalmente, es de resaltar que a pesar de que las plántulas estaban creciendo en condiciones de

salinidad muy tóxicas para otras plantas, las observadas siguieron su desarrollo, aunque a una tasa menor, mostrando la gran resiliencia que tienen las plántulas de cactáceas a ambientes desfavorables.

Estos resultados confirman lo observado en un experimento que realicé de manera paralela, pero en otra cactácea de la especie *Echinocactus platyacanthus* (Link y Otto), en condiciones de estrés salino (Anexo 11.2). En dicho experimento observamos que las raíces adventicias y basales son persistentes ante este estrés. Tanto los resultados obtenidos con *M. flavicentra*, como con *E. platyacanthus* son consistentes, y por primera vez muestran las dinámicas de crecimiento de la raíz en tiempo real.

## 9. CONCLUSIONES

- En este estudio se documentó la germinación de especies de la Serie *Supertextae*, encontrando una variación en todas las especies, teniendo una germinación por encima del 50% para todas las especies y germinando antes de los 20 días, con lo cual se puede decir que estas especies no tiene requerimientos específicos para llevar a cabo este proceso.
- Las dinámicas de crecimiento de la raíz en especies de la Serie *Supertextae*, mostraron una variación considerable, que nos muestra la diversidad en la topología de la raíz, teniendo así, que estas especies, tienen una amplia gama de ambientes en los que se desarrollan, lo que da como resultado esta variación.
- Las dinámicas de crecimiento de la raíz en *Mammillaria flavicentra* se vieron afectadas por las concentraciones de cloruro de sodio (NaCl), al 50 mM y 100 mM. Si bien las concentraciones no fueron letales en las primeras semanas de experimentación, redujeron considerablemente su crecimiento, principalmente con 100 mM de NaCl. Sin embargo, las plantas desarrollaron otros tipos de raíces como son las adventicias y las basales para intentar contrarrestar los efectos causados por este compuesto.

## 10. LITERATURA CITADA

- Bárcenas-Argüello, M., López-Mata, L., Terrazas, García-Moya, E. (2013). Germinación de tres especies de *Cephalocereus* (Cactaceae) endémicas del Istmo de Tehuantepec, México. *Polibotánica*. (36), 105-116.
- Bravo, H & Sánchez-Mejorada, H. (1978). Las cactáceas de México. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Bravo, H & Sánchez-Mejorada, H. (1991). Las cactáceas de México. Vol. III. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Bravo-Avilez, D., Zavala-Hurtado, J. A., Rendón-Aguilar, B. (2019). Damage in Cactaceae, their geographic distribution and new evidences. *Botanical Sciences*, 97(4), 551–567. <https://doi.org/10.17129/botsci.2299>
- Butterworth, C.A., & Wallace, R.S. (2004). Phylogenetic studies of *Mammillaria* (Cactaceae)--insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *Am. J. Bot.* (91), 1086–1098.
- Colchado-López, J., Cervantes, R. C., Rosas, U. (2019). A Linear Model to Describe Branching and Allometry in Root Architecture. *Plants*, 8 (7), 218.
- Contreras-Padilla, M., Rivera-Muñoz, E, Gutiérrez-Cortez, E. (2015). Characterization of crystalline structures in *Opuntia ficus-indica*. *J Biol Phys*. 41: 99.
- Contreras-Quiroz, M., Pando-Moreno, M., Flores, J., Jurado, E. (2016). Effects of wetting and drying cycles on the germination of nine species of the Chihuahuan Desert. *Botanical Sciences*. (94), 221-228
- Dubrovsky, J. (1996). Seed Hydration Memory in Sonoran Desert Cacti and Its Ecological Implication. *American Journal of Botany*. 83(5), 624-632.
- Dubrovsky, J. (1997). Determinate primary-root growth in seedlings of Sonoran Desert Cactaceae; its organization, cellular basis, and ecological significance. *Planta*. 203: 85-92.

- Dubrovsky, J., North, G., Nobel, P. (1998). Root growth, developmental changes in the apex, and hydraulic conductivity for *Opuntia ficus-indica* during drought. *New Phytologist*, 138(1), 75-82.
- Dubrovsky, J., Gómez-Lomelí, L. F. (2003). Water deficit accelerates the determinate developmental program of the primary root and does not affect lateral root initiation in a Sonoran Desert cactus (*Pachycereus pringlei*, Cactaceae). *Am. J. Bot.* 90, 823-831.
- Franco-salazar, V. A., & Véliz, J. A. (2008). Efectos de la salinidad sobre el crecimiento, acidez titulable y concentración de clorofila en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Vol. 20).
- Flores, J., Jurado, E., Arredondo, A. (2006). Effect of light on germination of seeds of Cactaceae from Chihuahua Desert, Mexico. *Seeds Science Research*. 16, 149-155.
- Flores, M., Manzanero, M. (2010). El género *Mammillaria* en Oaxaca: Relación entre filogenia y la distribución geográfica. En *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. Páginas 100-111.
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. En *New Phytologist* (Vol. 179, Issue 4, pp. 945–963). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x>
- González, J. (2020). Caracterización del desarrollo temprano de la raíz en especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- González-Sánchez, J. de J., Santiago-Sandoval, I., Lara-González, J. A., Colchado-López, J., Cervantes, C. R., Vélez, P., Reyes-Santiago, J., Arias, S., & Rosas, U. (2021). Growth Patterns in Seedling Roots of the Pincushion Cactus *Mammillaria* Reveal Trends of Intra- and Inter-Specific Variation. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.750623>
- Hameed, M., Ashraf, M., & Naz, N. (2009). Anatomical adaptations to salinity in cogon grass [*Imperata cylindrica* (L.) Raeuschel] from the Salt Range, Pakistan. *Plant*

and Soil, 322(1), 229–238. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9911-6>

Hasana, R., & Miyake, H. (2017). Salinity Stress Alters Nutrient Uptake and Causes the Damage of Root and Leaf Anatomy in Maize. *KnE Life Sciences*, 3(4), 219. <https://doi.org/10.18502/kls.v3i4.708>

Hernández, H. M., Gómez-Hinostrosa, C. (2015). Mapping the cacti of Mexico Part II. *DHBooks. Milborne Port, UK*.

Hunt, D. (2006). The New Cactus Lexicon. Dh Books, Milborne Port, England.

Kirschner, G. K., Xiao, T. T., & Blilou, I. (2021). Rooting in the desert: A developmental overview on desert plants. In *Genes* (Vol. 12, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/genes12050709>

Loustalot, E., Malda, X., Suzán, H., Hernández, L., Guevara, A. (2014). Estudio de germinación y crecimiento en semillas de *Ferocactus histrix* (De Candolle). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (59), 79-95.

Loza-Cornejo, S., Aparicio-Fernández, X., Patakfalvi, R., Rosas-Saito, G. (2017). Caracteres anatómicos y fitoquímicos del tallo y raíz de *Mammillaria uncinata* (Cactaceae). *Acta Botanica mexicana*, (120), 21.

Loza-Cornejo, S., Terrazas, T., López-Mata, L., Trejo, C. (2003) Características Morfo-Anatómicas y metabolismo fotosintético en plántulas de *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae): Su significado adaptativo. *Interciencia*. (28), 83-89.

Loza-Cornejo, S., y Terrazas, T. (2011). Morfo-anatomía de plántulas en especies de Pachycereae: ¿hasta cuándo son plántulas? *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (88), 1-13.

Lynch, J. (1995). Root architecture and plant productivity. *Plant physiol.* 109: 7-13.

Maggio, A., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Federica Consiglio, M., & Joly, R. J. (2001). Unravelling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. In *Australian Journal of Plant Physiology* (Vol. 28, Issue 10, pp. 999–1004). <https://doi.org/10.1071/pp01099>

- Maguire, J. (1962). Speed of germination in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. *Crop Science*. 2 (2):176-177.
- Martínez-Berdeja, A., Valverde, T. (2008). Growth response of three globose cacti to radiation and soil moisture: An experimental test of the mechanism behind the nurse effect. *Journal of Arid Environments*. 72. 1766–1774. 10.1016/j.jaridenv.2008.04.010.
- Maya-García, R., Arizaga, S., Cuevas-Reyes, P., Peñaloza-Ramírez, J., Rocha, V., Oyama, K. (2017). Landscape genetics reveals inbreeding and genetic bottlenecks in the extremely rare short-globose cacti *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae) as a result of habitat fragmentation. *Plant Diversity*. (39), 13-19.
- Mociño, J., Sessé, M., Echeverría y Godoy, A. y Vicente de la Cerda, J. (2010). *La Real Expedición Botánica a Nueva España*, Vol. IV. Siglo XXI Editores. México, D.F.
- Montemayor, M. (2010). Publicación de la obra *La Real Expedición Botánica a Nueva España*. *Nova tellus*. 28(2), 313-316.
- Reinhardt, D., Rost, T. (1995). Primary and lateral root development of dark- and light-growth cotton seedlings under salinity stress. *Botanica Acta*. (108) 457-465.
- Rojas-Aréchiga, M., Batis, A. (2001). Las semillas de cactáceas... ¿forman bancos en el suelo? *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (46) 76-82.
- Rojas-Aréchiga, M., Mandujano-Sánchez, M. (2017). Latencia secundaria en especies de la tribu Cacteeae (Cactaceae). *Polibotánica*. (44), 137-145. <https://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.44.10>
- Rojas-Aréchiga, M., Mandujano, M., Golobov, K. (2012). Seed size and photoblastism in species belonging to tribe Cacteeae (Cactaceae). *J Plant Res*. (126), 373-386
- Rosas, U., Lara-González, J. A., De-la-Rosa-Tilapa, A., & Terrazas, T. (2021). Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) seedlings. *Journal of Arid Environments*, (187). <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104431>

- Ruedas, M., Valverde, T., Castillo, S. (2000). Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. (66), 25-35.
- Ruíz-González, S., Rojas-Aréchiga, M., Mandujano, M. (2011). Descripción morfológica y germinación de las semillas de *Echinomastus unguispinus*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (56), 36-44
- Santiago, I. (2020). Caracterización fenotípica de las raíces de plántulas de *Mammillaria haageana* (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Santiago, I (2020). Trasplante vertical [Figura]. Recuperado de "Diagrama de método".
- Sánchez, B, García, E., Terrazas, T., Reyes, A. (2005). Efecto de la hidratación discontinua sobre la germinación de tres cactáceas del desierto costero de Topolobampo, Ahome, Sinaloa. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (50)
- Sánchez-Soto, B., Reyes-Olivas, A., García-Moya, E., Terrazas, T. (2010). Germinación de tres cactáceas que habitan la región costera del noreste de México. *Interciencia*. (35), 299-305.
- Shishkova S, Dubrovsky, J. (2005). Developmental programmed cell death in primary roots of Sonoran Desert Cactaceae. *American Journal of Botany*. (92), 1590–1594.
- Shishkova, S., Las Peñas, M. L., Napsucialy-Mendivil, S., Matvienko, M., Kozik, A., Montiel, J., Patiño, A., and Dubrovsky, J. G. (2013). Determinate primary root growth as an adaptation to aridity in Cactaceae: towards an understanding of the evolution and genetic control of the trait. *Annals of Botany*. (112), 239-252.
- Solórzano, S., Cuevas-Alducin, P., García-Gómez, V., Dávila, P. (2014). Genetic diversity and conservation of *Mammillaria huitzilopochtli* and *M. supertexta*, two threatened species endemic of the semiarid region of central Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. (85). 565-575.
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Montaña, C., Romero-Schmidt, H. y Vega-Villasante, E. (1996). Efecto de la temperatura, acidez, iluminación, salinidad, irradiación

solar y humedad sobre la germinación de semillas de *Pachycereus pecten-aboriginum* “cardón barbón” (Cactaceae). Cactus y suculentas mexicanas. XLI.

Xu, Z., Zhou, G., Shimizu, H. (2010). Plant responses to drought and rewatering. *Plant signaling & behavior*, 5(6), 649–65

## 11. ANEXO

11.1 Publicación del artículo de investigación: Growth patterns in seedling roots of the pincushion cactus *Mammillaria* reveal trends of intra- and inter- specific variation.



# Growth Patterns in Seedling Roots of the Pincushion Cactus *Mammillaria* Reveal Trends of Intra- and Inter-Specific Variation

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Ramiro Esteban Rodríguez,  
CONICET Instituto de Biología  
Molecular y Celular de Rosario  
(IBR), Argentina

### Reviewed by:

María Laura Martínez,  
Universidad Nacional de  
Rosario, Argentina  
María Victoria Rodríguez,  
Universidad Nacional de  
Rosario, Argentina

### \*Correspondence:

Ulises Rosas  
urosas@ib.unam.mx

† These authors have contributed  
equally to this work and share first  
authorship

### Specialty section:

This article was submitted to  
Plant Development and EvoDevo,  
a section of the journal  
Frontiers in Plant Science

Received: 30 July 2021

Accepted: 14 September 2021

Published: 08 October 2021

### Citation:

González-Sánchez JJ,  
Santiago-Sandoval I,  
Lara-González JA, Colchado-López J,  
Cervantes CR, Vélez P,  
Reyes-Santiago J, Arias S and  
Rosas U (2021) Growth Patterns in  
Seedling Roots of the Pincushion  
Cactus *Mammillaria* Reveal Trends of  
Intra- and Inter-Specific Variation.  
*Front. Plant Sci.* 12:750623.  
doi: 10.3389/fpls.2021.750623

José de Jesús González-Sánchez<sup>1,2†</sup>, Itzel Santiago-Sandoval<sup>1†</sup>,  
José Antonio Lara-González<sup>1†</sup>, Joel Colchado-López<sup>1,2</sup>, Cristian R. Cervantes<sup>1,2</sup>,  
Patricia Vélez<sup>3</sup>, Jerónimo Reyes-Santiago<sup>1</sup>, Salvador Arias<sup>1</sup> and Ulises Rosas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, <sup>2</sup> Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, <sup>3</sup> Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

Genetic mechanisms controlling root development are well-understood in plant model species, and emerging frontier research is currently dissecting how some of these mechanisms control root development in cacti. Here we show the patterns of root architecture development in a gradient of divergent lineages, from populations to species in *Mammillaria*. First, we show the patterns of variation in natural variants of the species *Mammillaria haageana*. Then we compare this variation to closely related species within the Series *Supertexta* in *Mammillaria* (diverging for the last 2.1 million years) in which *M. haageana* is inserted. Finally, we compared these patterns of variation to what is found in a set of *Mammillaria* species belonging to different Series (diverging for the last 8 million years). When plants were grown in controlled environments, we found that the variation in root architecture observed at the intra-specific level, partially recapitulates the variation observed at the inter-specific level. These phenotypic outcomes at different evolutionary time-scales can be interpreted as macroevolution being the cumulative outcome of microevolutionary phenotypic divergence, such as the one observed in *Mammillaria* accessions and species.

**Keywords:** Cactaceae, natural variation, root architecture, succulent plant, plant evolution, root development, evo-devo, microevolution

## INTRODUCTION

A long standing debate in evolutionary biology is whether the nature of macroevolutionary change can be explained based on the principles and processes of microevolution. One possibility is that the macroevolutionary outcomes are the result of the cumulative microevolutionary processes, so the footprint of microevolution can be seen at higher levels of taxonomic divergence. This possibility has been tested in some organisms such as crocodiles, in which intraspecific crane variation (a highly robust trait) spans half of the extant species (Okamoto et al., 2015). Furthermore, in model species such as *Drosophila*, it has been experimentally shown that the genetic variation explaining

divergent pigmentation patterns among species, are shared with the genetic variation displayed within species (Wittkopp et al., 2009). On the other hand, it has been argued that morphological divergence between species is often non-adaptive, as compared to variation within species. This is because regardless of their adaptive value, phenotypic differentiation has been suggested to be frequently rapid, and random in direction, involving the evolution of gene regulation, pleiotropy, epistasis and canalization (Davis and Gilmartin, 1985), which in turn could result in different nature of the variation within and between species. Despite the relevance of the question for the understanding of evolution and development of breeding strategies, in plants, to our knowledge there are very few comprehensive cases where these ideas have been tested at the morphological or genetic level. One of the few examples is the case of cacti, in which the comparison of micro- vs. macro-evolutionary divergence has been indirectly addressed in the determinate primary growth of the root apex, a highly conserved trait in the subfamily Cactoideae (Shishkova et al., 2013; Rodríguez-Alonso et al., 2018) in which the timeframe of this apex determination is correlated with environmental factors, within and between species (Martino et al., 2018); however, the number of species and accessions are low to draw conclusions about the nature of evolutionary divergence. Therefore, we attempt to provide elements to this discussion in plant evolution, studying the root development of *Mammillaria* species.

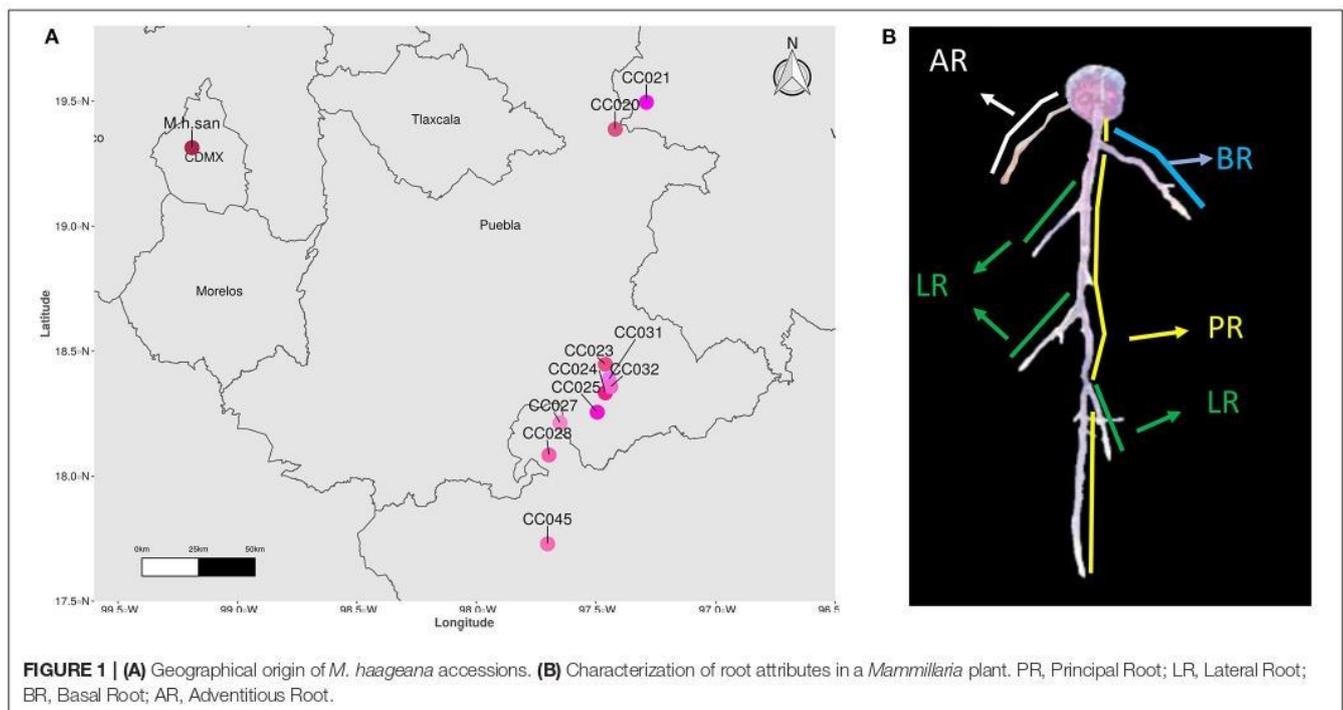
*Mammillaria* is the most diverse genus within the Cactaceae family. It comprises 155–320 species mainly distributed in Mexico (Reppenhagen, 1992; Guzmán et al., 2003; Hunt et al., 2006; Hernández and Gómez-Hinostrosa, 2015; Villaseñor, 2016). The genus is characterized by plants with tubercles arranged in spiraled rows, the areola is dimorphic, that is, one part is at the base from where the flowers, bristles or branches arise, and another at the tip of the tubercles where spines grow (Bravo and Sánchez-Mejorada, 1991; Scheinvar, 2004). It has been proposed that *Mammillaria* s.l. is non-monophyletic (Butterworth and Wallace, 2004), and recently it was also proposed that the Mammilloid clade circumscribes three monophyletic genera: *Mammillaria* s.s., *Coryphantha* and *Cochemiea* s.l. (Breslin et al., 2021). The Mammilloid clade is estimated to have diverged for the last 8.62 million years (Hernández-Hernández et al., 2014). In addition, the *M. haageana* genome size has been estimated to be  $1C = 1.5$  Gbp (Christian et al., 2006), and a plastid genome of 115 kbp (Hinojosa-Alvarez et al., 2020). Despite our current incomplete understanding of the phylogenetic relationships among *Mammillaria* species, a core *Mammillaria* set of species grouped into 8 subgenres and 16 series have been proposed (Butterworth and Wallace, 2004; Hernández and Gómez-Hinostrosa, 2015). Most species are distributed in arid or semi-arid lands, but some species are also found in deciduous forests, or even in oak-pine forests (Hernández and Gómez-Hinostrosa, 2015).

Among the series, *M. ser. Supertextae* is characterized by the presence of cuticular crystals (Lüthy, 1995) and flowers smaller than 15 mm (Hunt et al., 2006). The species that make up the series are distributed from Central Mexico to Central America

(Pilbeam, 1999). It has been suggested that the sister series of *M. ser. Supertextae* is *M. ser. Polyachanthae*, supported by a deletion in *rpl16*; it was also found that *M. ser. Supertextae* started diverging about 2.1 million years ago. According to an accepted classification (Hunt, 1983; Hunt et al., 2006), the *Supertextae* series comprises 9 species: *M. albilanata* Backeb., *M. crucigera* Mart., *M. columbiana* Salm-Dyck, *M. dixanthocentron* Backeb. ex Mottram., *M. flavicentra* Backeb., *M. haageana*, *M. halbingeri* Boed., *M. huitzilopochtli* D.R.Hunt, and *M. supertexta* Mart. Ex Pfeiff. Within the *Supertextae* Series, *M. haageana* is a highly variable species, which seems to have a complex evolutionary history resulting in an ample distribution along the Mexican neovolcanic axis, inhabiting a wide range of environments from pine-oak forests to shrubs and deserts. These locations have been classified into subspecies according to their distribution, plant shape, spination patterns, flower color, among other traits (Guzmán et al., 2003). *M. haageana* is a highly charismatic species as ornamental, and it is one of the few cacti species to have been reported by the early expeditions to the New World of Sessé & Mociño during the XVIII Century (Mociño and Sessé, 2015). Currently it is one of the most representative flagships of the UNAM Jardín Botánico for conservation efforts. Despite its biodiversity, horticultural, historic and conservation importance, the evolutionary history of *M. haageana* is far from being fully understood. Thus, in this work we refer to the *M. haageana* natural variants as accessions.

In sessile organisms such as plants, resource foraging by roots, allocation of assimilates and growth are complex problems vital to maximize survival and reproductive success. Evolutionary processes have generated and tested biological trade-offs by optimizing urgent tasks, while allocating fewer resources to other non-imperative tasks. One could consider that species and populations are optimal to multitask in their native environment; however, their optimality is constrained by the previous best solutions for different tasks. During plant development some of the most imperative tasks that roots perform, and particularly for desert plants, are water uptake and nutrient foraging. This is why plants must decide how to grow to optimize resource uptake, but also some of these growth strategies might be fixed to maximize fitness. We currently have a comprehensive understanding of the molecular mechanisms controlling growth and drought stress responses in model plants. The challenge is to understand the genetic mechanisms on how desert plants uptake resources particularly by roots, grow and develop, in early stages when seedlings are highly sensitive to mortality.

In this work we present a comprehensive picture on how roots from the *Mammillaria* genus grow during early stages of development (first few months). We used three groups of *Mammillaria* stocks (*Mammillaria* species, *M. ser. Supertextae* species, and *M. haageana* accessions) representing an ample range of evolutionary divergence (up to 8 million years), and used this framework to ask the question whether natural variation recapitulates the diversity between species, and test the hypothesis whether microevolutionary phenotypic evolution resemble that from macroevolutionary processes.



## MATERIALS AND METHODS

### Plant Material

Seeds from *Mammillaria* species were obtained from the Jardín Botánico (UNAM) collections, harvested from the living cacti collections within 1–3 years prior germination. To represent species from the *Mammillaria* genus, we selected 16 species belonging to 8 series. For simplicity, acronyms of these species were created as follows: *M. carnea* Zucc. ex Pfeiff. (*M. car*), *M. coahuilensis* (Boed.) Moran (*M. coa*), *M. duwei* Rogoz. and P. J. Braun (*M. duw*), *M. formosa* Scheidw. (*M. for*), *M. hernandezii* Glass and R. A. Foster (*M. her*), *M. karwinskiana* Mart. (*M. kar*), *M. lasiacantha* Engelm. (*M. las*), *M. magnimamma* Haw. (*M. mag*), *M. pectinifera* F. A. C. Weber (*M. pec*). For *M. ser. Supertextae* species we could only obtain 7 species, and they were abbreviated as follow: *M. albilanata* (*M. alb*), *M. crucigera* (*M. cru*), *M. dixanthocentron* (*M. dix*), *M. flavicentra* (*M. fla*), *M. huitzilopochtli* (*M. hui*), and *M. supertexta* (*M. sup*). As for the *M. haageana* accessions, seeds were collected from the wild in 2018 (Figure 1A), assigned accession numbers according to our previous work (Cervantes et al., 2021), and their corresponding plants were deposited in the Jardín Botánico (Instituto de Biología, UNAM) collection (collection license SGPA/DGGFS/712/3690/10). For *M. haageana* subspecies *san-angelensis* (*M. h. san*) seeds were obtained from the Adoption Center Conservation Program for Endangered Species at Jardín Botánico (Instituto de Biología, UNAM).

### Growth Conditions and Phenotyping

Seeds were disinfected by a wash in 70% commercial bleach for 5 mins, followed by three washes in sterile distilled water, within a

laminar flow-hood with HEPA filter (Veco, México). The seeds were suspended in 0.1% agar to facilitate their manipulation and adhesion to the sowing plate. Seeds were sown in 12 × 12 cm petri dishes (Greiner Bio-One, Cat 688102), with 75 mL of 50% strength Murashige-Skoog media (Caisson Labs, Cat MSP09-1LT), added with 0.05 MES salts (MP Biomedicals, Cat 152454), adjusted to a pH of 5.7, and solidified with 1% agar (Sigma Life Science, Cat A1296-1KG). Each plate was sown with 49 evenly spaced seeds (7 by 7 disposition), and germinated in a growth chamber (Percival Scientific, Cat CU22L) at 28°C with a 16/8 long day photoperiod, as in our previously published experimental set up (Rosas et al., 2021). Germination was recorded every third day, for 45 days, after which we had plenty of healthy seedlings with 40–45 days after germination, and that is why we chose this age for further procedures. The seedlings were then transplanted to fresh plates prepared as mentioned above, and arranged in two rows of 5 seedlings in each plate. To adhere the roots to the plate, drops of 0.3% agar were added to the root, and plates were horizontally kept for 3 days, after which plates were switched to vertical position, and plants were kept in the same growth chamber at 28°C and 16/8 photoperiod. Digital images from plates were obtained using a scanner (EPSON Perfection v600 Photo) at a 600 dpi resolution in JPG format, at 45, 73, 101, 129, and 157 days post germination, corresponding to periods of 4 weeks, so the differences were noticeable. From each species or *M. haageana* accession we obtained 20–40 plants, which were considered as biological replicates (Supplementary Table 1). Because of the magnitude of the experiment, these plants were obtained in sequential batches. We used the free software ImageJ (version 1.52a), coupled to a measuring system previously used to

calculate the Rhizochron index (Colchado-López et al., 2019), and whose scripts calculated several attributes of the roots: Total Root Length (TRL), Principal Root Length (PRL), Total Lateral Root Length (TLRL), Adventitious Root Length (ARL), Basal Root Length (BRL), number of Lateral Roots (nLR), number of Adventitious Roots (nAR), and number of Basal Roots (nBR). We defined the principal root as the dominant root axis in the early stages (45 and 73 days), the lateral roots as any root branching out from another root, the adventitious roots as those originating from the shoot (the hypocotyl), and basal roots as those roots originating from the first millimeter from the root-shoot junction on the root side (Figure 1B). These measurements were done for individual plants over time, so it was always clear what type of root was being measured. All gathered data can be found in the Supplementary Data Sheet 1.

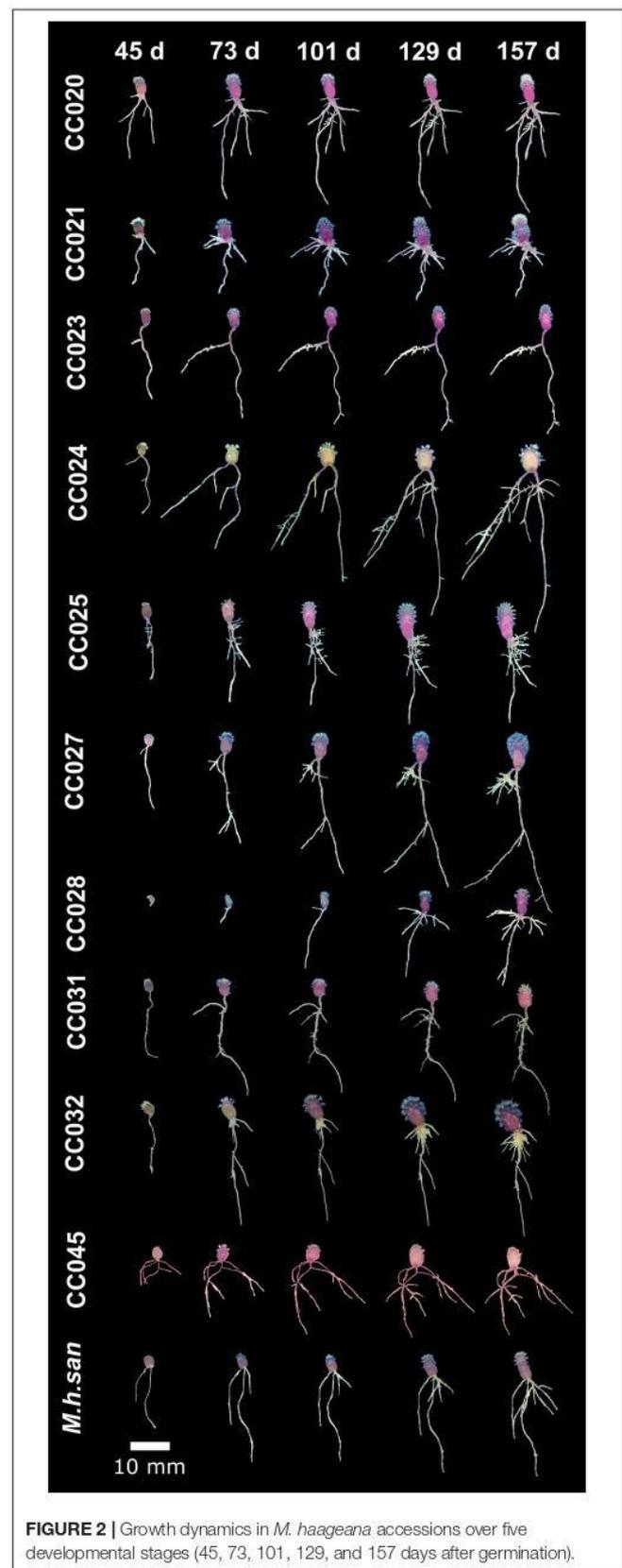
### Data Processing and Clustering Analysis

Modified range plots for all genotypes were created using the package “ggplot2,” in which the median value was expressed along with bars specifying the interquartile range, and atypic data points. For visualization purposes, all plots were done in log<sub>10</sub> scale using the function “pseudo\_log\_trans()” from package “scales” to better appreciate the subtle differences toward low trait values in root variation. Cluster analysis for accession dissimilarity was performed on the medians of each group with euclidean distance, using the package “dendextend,” normalizing for trait variance. PCA analysis was performed by scaling the variables, using a Spearman correlation, and eigenvectors and eigenvalues were obtained with “eigen()” from “base.” Scree-plots and individual PCs boxplots were visualized using the “ggplot” and “ggrepel” packages, and the boxplots were aligned with the “plot\_grid()” function from “cowplot.” Statistical differences for the PCs were analyzed with a Kruskal-Wallis test performed with the “kruskal()” function from “agricolae.” Post-hoc Dunn test was performed using the “dunnTest()” from “FSA” package and letters were obtained using the “cldList()” function from “rcompanion.” All analyses were done in R version 4.0.1 (R Core Team, 2020).

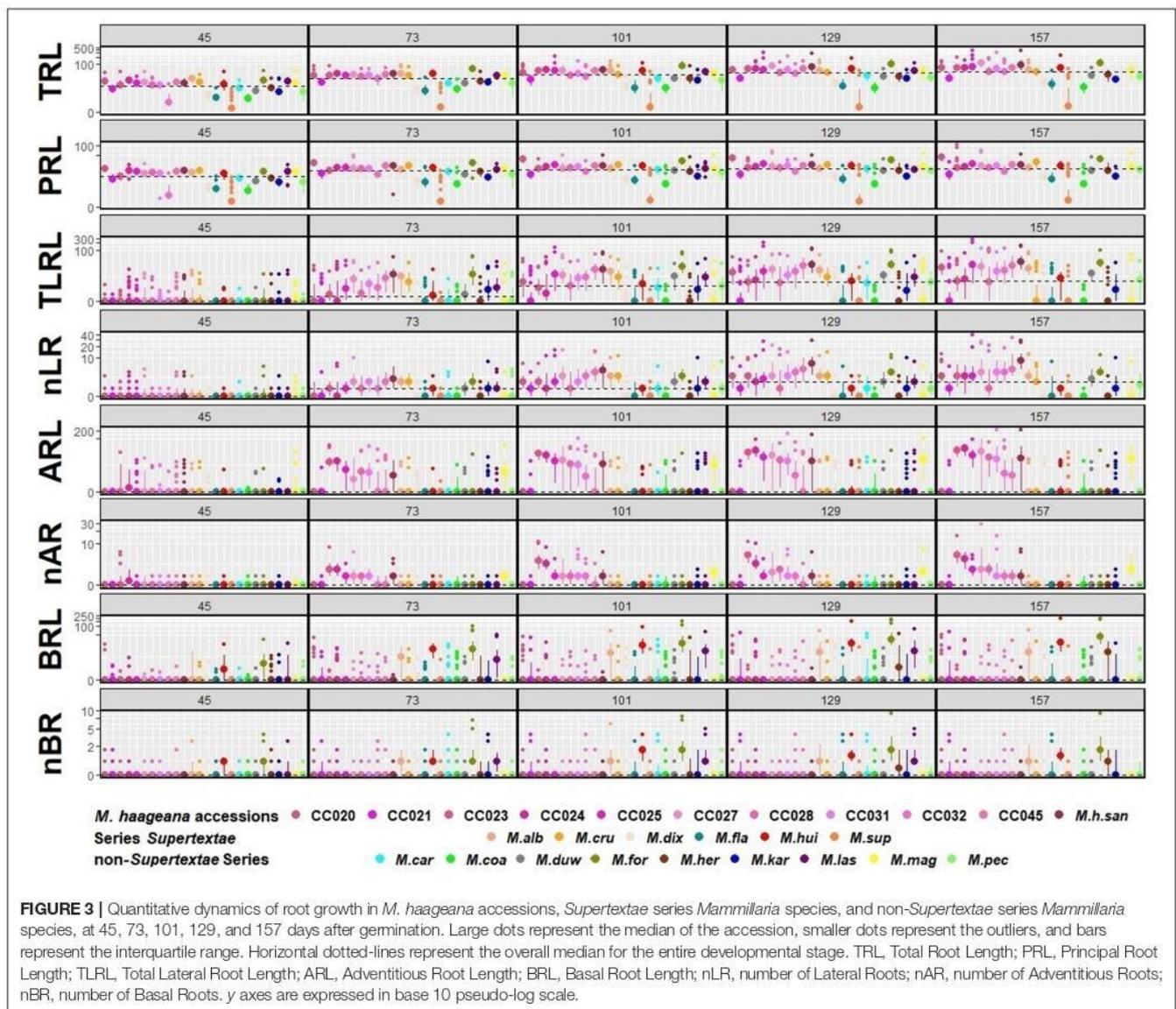
## RESULTS

### Natural Variation in Root Architecture Within *Mammillaria haageana* Accessions

To characterize the natural variation in developmental dynamics in a *Mammillaria* species, we chose *M. haageana*, a widely distributed species along the Mexican neovolcanic axis (Hunt et al., 2006; Arias et al., 2012), whose diversity we are currently characterizing (Cervantes et al., 2021), and we have established a collection of natural accessions at the Jardín Botánico (Instituto de Biología, UNAM). Using seeds from the wild, first we performed germination in aseptic conditions in order to study the variation in root architecture in natural accessions under a controlled environment. However, these germination efforts of *M. haageana* revealed the consistent recovery of a dematiaceous filamentous fungus emerging from seeds in some accessions originating from oak-pine



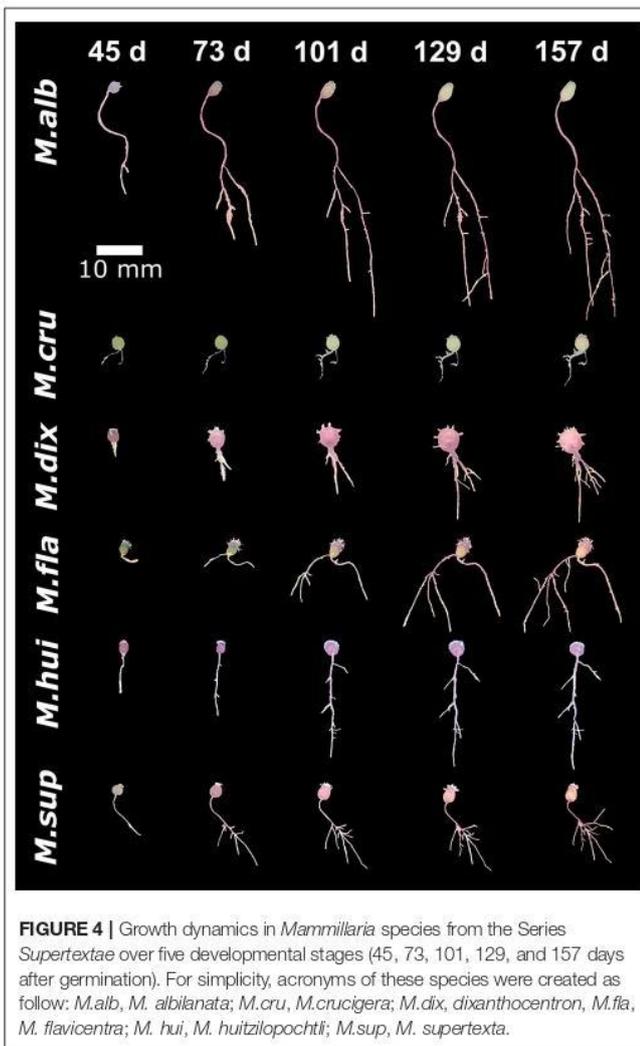
**FIGURE 2 |** Growth dynamics in *M. haageana* accessions over five developmental stages (45, 73, 101, 129, and 157 days after germination).



forests, despite superficial decontamination of the material and its incubation under controlled conditions in growth chambers. We isolated this fungus for future characterizations and experiments (Supplementary Figure 1). However, our observations suggest that the presence of this fungus enhanced the suitable germination and posterior development of the early root system in contrast to seeds where this fungus was not present. This agrees with former work reporting seed germination in *Opuntia* depends on the presence of fungi to reduce mechanical resistance of the testa (Delgado-Sánchez et al., 2013). Furthermore, success in the propagation of cacti infected with fungi and bacteria has been documented, with *Mammillaria* spp. being more amenable (Fay and Gratton, 1992). However, our observations of plant-fungus interactions in *M. haageana* deserve further examination in future work. For the purpose of the current experiment, those contaminated

*M. haageana* accessions had to be discarded from the analysis (CC022, CC030, and CC035), and from the 20 accessions that we currently have in the *M. haageana* collection, we were able to assess root growth dynamics in 11 of them (Figure 2).

Regarding the growth dynamics in *M. haageana*, despite being variants of the so-called same species, there is plenty of variation on the root architectural system when comparing different accessions (Figure 2), as well as within each accession (Figure 3), and different types of roots emerge at distinct time frames. In general, the lateral roots had a sustained growth during the first 101 days, but later it stagnated toward the 129 and 157 days after germination. Among accessions, the presence and elongation of lateral roots was highly variable over time, with emerging lateral roots in CC024 and CC032 at 45 days, but in other accessions they

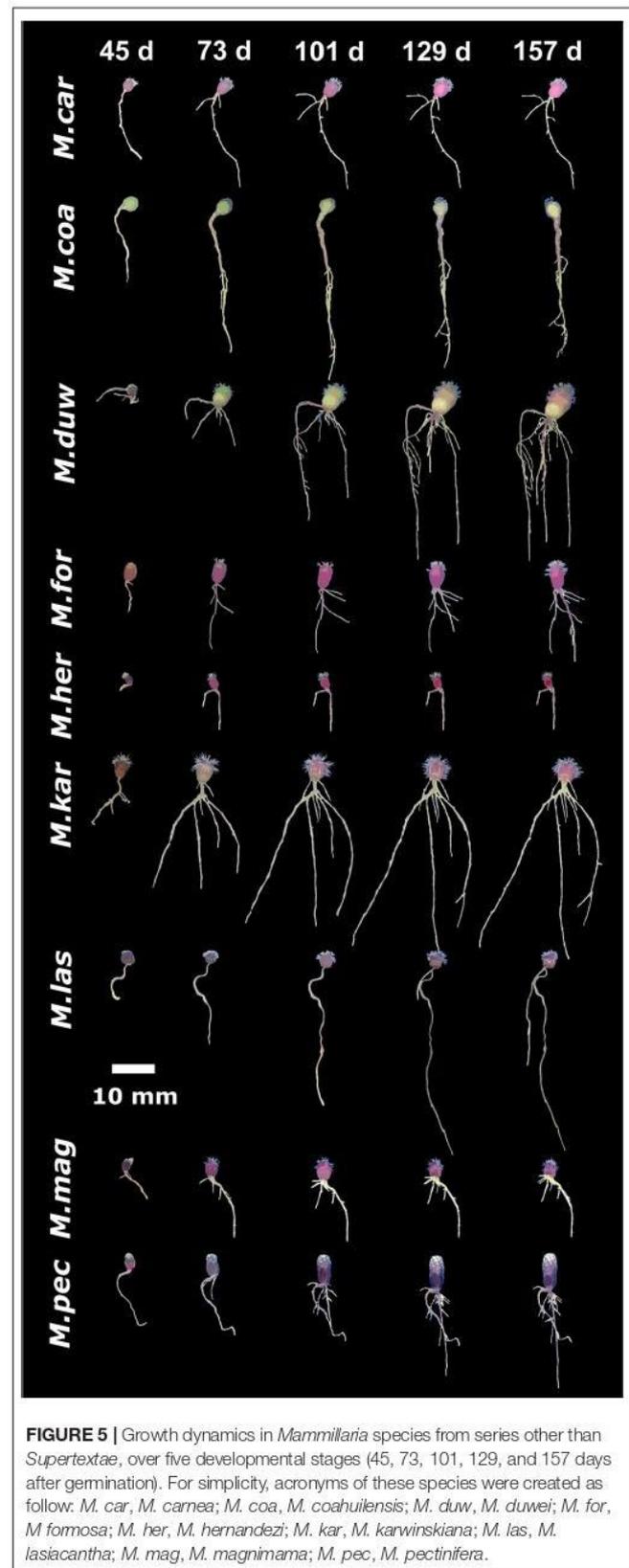


**FIGURE 4 |** Growth dynamics in *Mammillaria* species from the Series *Supertextae* over five developmental stages (45, 73, 101, 129, and 157 days after germination). For simplicity, acronyms of these species were created as follow: *M.alb*, *M. albilanata*; *M.cru*, *M. crucigera*; *M.dix*, *dixanthocentron*, *M.flu*, *M. flavicentra*; *M. hui*, *M. huitzilopochtli*; *M.sup*, *M. supertexta*.

proliferated from day 73 onwards, except for the accession CC021 in which lateral roots were not visible before 101 days after germination.

Adventitious roots proliferated from day 73, and their growth was remarkable by day 129 and 157. However, in CC028 and CC031, a large proportion of the seedlings did not show adventitious roots before the day 129, suggesting that these two accessions have slower growth rates as compared to the rest of the accessions. Remarkably, CC024 and CC032 were the two accessions with the longest adventitious roots.

An interesting observation for *M. haageana* accessions is that in most seedlings we did not detect basal roots, however, in some exceptional plants, as in accessions CC021, CC025, and CC031, some adventitious roots emerged before the day 73, and elongated later on, but no new adventitious root emerged in later stages.



**FIGURE 5 |** Growth dynamics in *Mammillaria* species from series other than *Supertextae*, over five developmental stages (45, 73, 101, 129, and 157 days after germination). For simplicity, acronyms of these species were created as follow: *M. car*, *M. carnea*; *M. coa*, *M. coahuilensis*; *M. duw*, *M. duwei*; *M. for*, *M. fomsosa*; *M. her*, *M. hernandesi*; *M. kar*, *M. karwinskiana*; *M. las*, *M. lasiacantha*; *M. mag*, *M. magnimama*; *M. pec*, *M. pectinifera*.

## Diversity in Root Architecture Between Closely Related *Mammillaria* Species

To compare the growth dynamics of *M. haageana* to the set of sister species within the series *Supertextae*, we grew seedlings of *M. flavicentra*, *M. dixanthocentron*, *M. albilanata*, *M. supertexta*, *M. huitzilopochtli*, and *M. crucigera*, in the same controlled conditions (Figure 4). When observing these phenotypes, we detected more dramatic differences between *Supertextae* series as compared to the *M. haageana* accessions (Figures 2–4). For instance, *M. cru* or *M. fla* had limited growth as opposed to the prominent root growth of *M. alb*. On the other hand, *M. alb* and *M. haageana* accessions had the longest root systems, as compared to the other *Supertextae* species. Different to the rest of the *Supertextae* species and *M. haageana* accessions, lateral roots in *M. alb* and *M. sup* did not slow down their growth toward the later stages of development.

A compelling observation is that most *Supertextae* species did not develop adventitious roots, as was the case of *M. alb*, *M. dix*, and *M. sup*. Some plants had adventitious roots in *M. cru*, *M. hui*, and *M. fla*. This pattern was somehow similar to what was observed in *M. haageana* accessions, which might suggest that the absence or poor growth of adventitious roots, might be a defining morphological feature of *Supertextae* species. In addition, very few individuals in most *Supertextae* species develop basal roots, suggesting that basal roots might also be a characteristic feature of the series.

## Diversity in Root Architecture Between *Mammillaria* Species

To compare the natural variation in root architecture in *M. haageana* accessions and *Supertextae* species to a higher order of evolutionary divergence, we grew a set of non-*Supertexta* Series *Mammillaria* species (Figure 5). Similar to what occurred in *M. haageana* accessions and *Supertextae* species, the overall root architecture grows at a sustained rate, but slows down in the later stages of development. Additionally, when comparing individuals from the same species, some of them are highly variable (i.e., *M. kar*) while others are pretty robust in their overall root size (i.e., *M. her*). When comparing among species, the clearest differences in overall root size were observed at 129 days after germination, in which time *M. kar* has the highest values, while *M. her*, *M. car*, and *M. cru* have the lowest values.

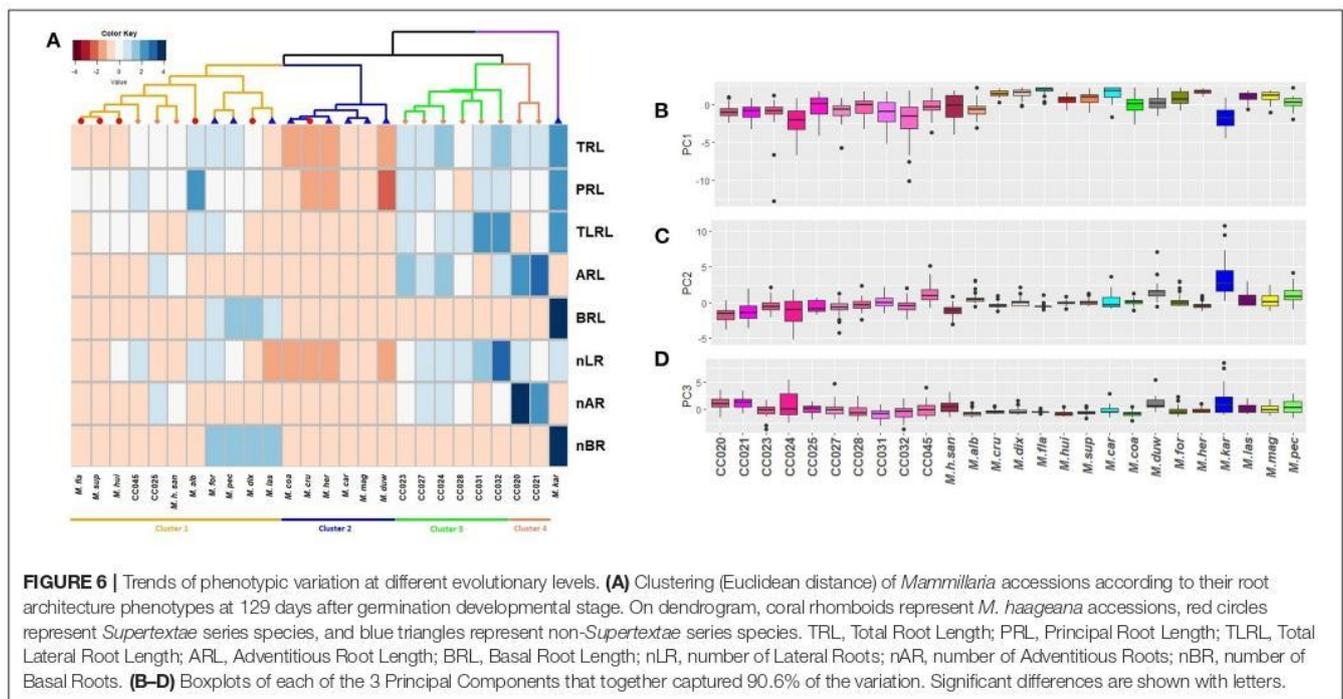
Regarding the principal root, it has an accelerated growth during the first developmental stages but later stagnates toward the later stages. None of the species principal roots exceeded the 60 mm of length. However, the principal root was one of the attributes with large variation among individuals of the same species, such as in *M. duw* and *M. kar*, while variation is tighter in *M. her*. A similar pattern was observed for the attributes of lateral roots.

Basal roots were present in all species, which was different to what occurs in *M. haageana*, in which basal roots are rare. In non-*Supertextae* species, basal root proliferation and growth was constant, having *M. kar* and *M. duw* the highest values. However, when observing the presence and length of adventitious roots, most species lacked them, being *M. her*, *M. cru*, and *M. duw* the

species with the outstanding values. Moreover, the emergence of adventitious roots seems to be a stochastic event, in which some of the individuals within a species develop these types of roots while others do not. This was the case of *M. her*, in which adventitious roots can be observed in 50% of the plants. These two attributes, the presence of basal and adventitious roots can be interpreted as strategies to cope with stresses, as we reported for the cacti species *Echinocactus platyacanthus* grown under salt conditions (Rosas et al., 2021); but the fact that not all plants present these types of roots could also be interpreted as a pre-established bet-hedging strategy to cope with challenging environmental circumstances, as has been shown for other type of traits in model organisms such as yeast (Levy et al., 2012).

## Comparing Trends of Natural Variation and Diversity in Root Architecture

In order to compare the trends of natural variation in *M. haageana* species, and the two levels of diversity in *Supertextae* Series and other non-*Supertextae* species, we performed a euclidean clustering analysis on the medians of eight root variables corresponding to TRL, PRL, TLRL, ARL, BRL, nLR, nAR, and nBR (Figure 6A). Performing the same clustering analysis using five root variables, excluding the number of different types of roots, gave a similar result (Supplementary Figure 2), recapitulating a similar clustering topography. We found four main clusters: the first cluster contains most *Supertextae* species (except for *M. cru*), as well as three non-*Supertextae* species (*M. for*, *M. pec*, and *M. las*); the cluster also includes three accessions of *M. haageana* (*M. h. san*, CC025 and CC045), which might be expected as *M. haageana* is one of the *Supertextae* species. Thus, this cluster shows a mixture of *Supertextae* species plus non-*Supertextae* species. The second cluster contains mostly non-*Supertextae* species in addition to *M. cru* which belongs to *Supertextae*, once again showing an asymmetric mixture *Supertextae* and non-*Supertextae* species. Interestingly, the third and fourth cluster grouped together most of the *M. haageana* accessions, leaving outside the cluster *M. h. san*, CC025, and CC045, which belonged to the first cluster. Within the fourth cluster, CC020 and CC021 grouped together, and this would be expected as these accessions were classified as *M. haageana* subsp. *haageana* (Guzmán et al., 2003), and their locations are within 10–12 km from one another. A similar case was observed on CC031 and CC032, grouping together in cluster three, which are classified as *M. haageana* subsp. *meissneri* (Guzmán et al., 2003), and whose populations are located 2 km away from one another. However, CC025 falls within cluster one, despite being within 5–6 kms from CC024 (in cluster three), both of them classified as *M. haageana* subsp. *meissneri*, but being CC025 more similar to *M. haageana* subsp. *san-angelensis*, which is located more than 230 km from those populations, inhabiting a completely different environment. Finally, *M. kar* does not cluster with any of the rest of the *Mammillaria* genotypes; this species is characterized by the prominent development of basal roots (Figure 4), which might be an adaptation to the environments where it is present. In addition, *M. kar* is the



sister species of *M. car* (Butterworth and Wallace, 2004), and yet their root architecture was not as similar as it could be expected. However, *M. kar* has an ample distribution range, and it remains to be seen whether other *M. kar* accessions display phenotypic variation, similar to what we observed in *M. haageana*. An interesting observation is that, within the second cluster, which is dominated by non-*Supertextae* species, we found *M. cru*, which was not unexpected as *M. her* and *M. car* have a similar distribution as *M. cru*, mainly in the surroundings of the Tehuacan-Cuicatlan Valley (Arias et al., 2012; Hernández and Gómez-Hinostrosa, 2015), perhaps even in sympatry. The predominant rock type in this cited area is limestone, so it is possible that these species have similar adaptations to the substrate environmental conditions, reflected in their root architecture.

To double check this observation, we performed a Principal Component Analysis, using the above mentioned data (Figures 6B–D). We found that 3 PCs capture 90.6% of the variation, having PC1 40.6%, PC2 30.7%, and PC3 19.2% (Supplementary Figure 3). Each of the other 5 PCs individually captured <10% each, and therefore we did not further consider them. As for PC1, four root traits contributed to its variance (TRL, TLRL, nLR, and PRL), for PC2 the complementary root traits contributed to its variance (nBR, BRL, nAR, ARL), and the variance of PC3 was a mix of root trait contributions from our eight measured roots attributes (Supplementary Tables 2, 3). We then plotted each of the PC-calculated values according to our categories: *M. haageana* accessions, *Supertextae* species, and non-*Supertextae* species. We found that only PC1 was able to distinguish between these three levels of comparison and particularly *M. haageana* accessions from the other

species. However, PC2, nor PC3 distinguish between the evolutionary categories, further confirming that the trends of variation between different levels of evolutionary divergence, partially overlap.

If microevolutionary processes recapitulate those of larger evolutionary time-scales, the accessible phenotypic space explored by natural variants within a species, might continuously overlap with the phenotypic space of closely related species, or distantly related species. This is, each of the species might find phenotypic solutions, but often finding the same solutions expressed in other closely related species; the phylogenetically closer the other species are, the more likely species are to find a similar solution. In our analysis, we found that cluster three and four distinguish most of the studied *M. haageana* accessions, showing that *M. haageana* might have found an exclusive phenotypic space for its root architecture; however, three of the accessions fell in cluster one, which in turn is dominated by *Supertextae* species, as well as having three non-*Supertextae* species. Meanwhile, one of the *Supertextae* species (*M. cru*), also fell within cluster two, which was dominated by non-*Supertextae* species. On the other hand, our PCA also showed a similar pattern, in which some trends of variation (i.e., PC1), allowed the distinction of the evolutionary categories, while in other PCs (i.e., PC2 and PC3) the distinction was not possible. This shows a reiterative partial overlap between the lower evolutionary hierarchy and its contiguous higher evolutionary hierarchy. In other words, during the evolutionary process and adaptation to novel environments, the root architecture phenotypes do not fall far from the evolutionary tree.

Despite our detailed root architecture characterization, it is possible that similar to *M. haageana*, other *Mammillaria* species

with wide distribution such as *M. car*, *M. alb*, *M. kar*, *M. mag*, *M. las*, *M. for*, and *M. hui*, might have local variants, and therefore their root phenotypes are only one small sample of the range of phenotypes the species can have. Thus, a similar approach to what was performed in *M. haageana* accessions is necessary for a more robust interpretation.

## DISCUSSION

What originates macroevolutionary diversity has been for a long time the subject of discussion. One possibility is that the cumulative effects of microevolutionary processes within species give rise to the phenotypic diversity seen among species. Here we showed that when studying the root growth dynamics in root architecture, natural variants of *M. haageana* partially recapitulate the breath of diversity observed in a set of *Mammillaria* species at two different evolutionary time-scales. This might be because, as species evolve and diversify, their natural variants explore the phenotypic space, often reaching the same phenotypic spaces from other species, but also providing the grounds for diversification and speciation. In other words, the outcome of phenotypic microevolution partially recapitulates the patterns generated at the macroevolutionary level, in root architecture in *Mammillaria* species.

Understanding morphological variation is often focused on phenotypes that are relatively easy to observe. Despite being one half of the plant and having relevance for plant nutrition and establishment, plant roots are often overlooked. In cacti and other succulent species this is particularly important because plant roots are an essential organ in charge of foraging water and nutrients which are often scarce in their environments. Here we presented one of the first surveys of root development at different evolutionary time-scales. What remains to be studied is how and why these root phenotypic growth patterns have originated, either driven by stochastic or adaptive evolution, and what genomic footprints these processes have left behind. In this sense, we have started these studies at the genetic and phenotypic level (Hinojosa-Alvarez et al., 2020; Cervantes et al., 2021), which complement other studies on the population genetics and genomic constitution of *Mammillaria* species (Solórzano et al., 2014, 2019; Solórzano and Dávila, 2015; Chincoya et al., 2020). Our results indicate that there is ample variation within a single species, *M. haageana*, which is also present in a range of environments, allowing us to further study the associations between root phenotypes and their environmental conditions of origin. However, this also raises issues about the possible links that can be detected when studying associations of species with the environment, because it is usual (as was our case in non-*M. haageana* species) to take a single accession to represent the entire species, leaving aside the natural variation within each species.

According to our data, the root of *Mammillaria* species is short, because the length of the principal root does not exceed 80 mm in our evaluated time-frame. However, lateral and basal root branches are generated from the principal root, and some species also develop adventitious roots, leading us to think that the root system is shallow and extends horizontally. In fact,

it has been proposed that the basal and adventitious roots in *E. platyacanthus* might play an important role during early growth of seedlings under salt stress (Rosas et al., 2021). It has been reported that in other cacti species the root system extends over the most superficial layers of the soil, and this might be an adaptation that allows roots to absorb rainwater quickly (Nobel, 1977; Gulmon et al., 1979; Hunt and Nobel, 1987; Niklas et al., 2002). In other plant species, it has been proposed through mathematical models and experimental validation, that genotypes with shallow and horizontally extended root systems improve the absorption of nutrients such as phosphorus, which has restricted mobility across the soil layers (Heppell et al., 2015; Camilo et al., 2021). Thus, we think that the *Mammillaria* (and perhaps other cacti) root system growth, might display strategies to cope with water stress and low phosphorus soils.

Our phenotypic characterization of root architecture growth was performed in controlled environmental conditions in order to minimize the environmental effects on the phenotype. This meant that our results might have interpretation limitations regarding our experimental environment, and perhaps these types of approaches should be done in multiple environments. However, jumping to a natural or semi natural condition poses a different set of limitations as previously shown in model species (Wilczek et al., 2009; Richards et al., 2012). Further research should be done to attempt bridging the gap between the lab and natural environments. Finally, in the wake of climate change and imminent prolonged droughts, we urge the community to draw more attention toward understanding drought tolerant plants such as cacti, and particularly roots in succulent plants, as this key organ might hold novel insights into water harvesting.

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The datasets presented in this study can be found in online repositories. The names of the repository/repositories and accession number(s) can be found in the article/**Supplementary Material**.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

JG-S, IS-S, JL-G, CC, JR-S, SA, and UR designed the research. SA and UR provided the research funds. JG-S, IS-S, and JL-G performed the experiments. IS-S, CC, SA, and UR collected seeds of *M. haageana* accessions. JR-S and SA provided seeds of non-*M. haageana* species. PV determined the identity of fungal contamination. JC-L and JG-S performed statistical analyses. JG-S, IS-S, JL-G, JC-L, and UR prepared the figures. UR and JG-S wrote the manuscript. JG-S, JC-L, and CC edited the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## FUNDING

This work was supported by UNAM-PAPIIT IN211319 to UR. JG-S and JC-L are MSc students, and CC is a doctoral student, all from Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad

Nacional Autónoma de México (UNAM), and received the fellowship 1085433, 1084692, and 631251, respectively, from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México). This work was done at Laboratorio Nacional de Biodiversidad (CONACyT-México), grant 268109 to UR.

## REFERENCES

- Arias, S., Gama-López, S., Guzmán-Cruz, L. U., and Vázquez-Benítez, B. (2012). "Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán," in *Fascículo 95. Cactaceae Juss*, 2nd Edn. eds. R. Medina Lemos, J. G. Sánchez Ken, A. García Mendoza, and S. Arias (Mexico City, Mexico: Instituto de Biología, UNAM).
- Bravo, H., and Sánchez-Mejorada, H. (1991). *Las Cactáceas de México, Vol III*. 1st Edn. Mexico City, Mexico: UNAM.
- Breslin, P. B., Wojciechowski, M. F., and Majure, L. C. (2021). Molecular phylogeny of the Mammilloid clade (Cactaceae) resolves the monophyly of *Mammillaria*. *Taxon* 70, 308–323. doi: 10.1002/tax.12451
- Butterworth, C. A., and Wallace, R. S. (2004). Phylogenetic studies of *mammillaria* (CACTACEAE)—insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *Am. J. Bot.* 91, 1086–1098. doi: 10.3732/ajb.91.7.1086
- Camilo, S., Odindo, A. O., Kondwakwenda, A., and Sibiyi, J. (2021). Root traits related with drought and phosphorus tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomy* 11, 1–14. doi: 10.3390/agronomy11030552
- Cervantes, C. R., Hinojosa-Alvarez, S., Wegier, A., Rosas, U., and Arias, S. (2021). Evaluating the monophyly of *Mammillaria* series *Supertextae* (Cactaceae). *PhytoKeys* 177, 25–42. doi: 10.3897/phytokeys.177.62915
- Chincoya, D. A., Sanchez-Flores, A., Estrada, K., Díaz-Velásquez, C. E., González-Rodríguez, A., Vaca-Paniagua, F., et al. (2020). Identification of high molecular variation loci in complete chloroplast genomes of *Mammillaria* (Cactaceae, Caryophyllales). *Genes* 11, 1–11. doi: 10.3390/genes11070830
- Christian, D. A., Palomino, G., García, A., and Méndez, I. (2006). Nuclear genome size and karyotype analysis in *Mammillaria* species (cactaceae). *Caryologia* 59, 177–186. doi: 10.1080/00087114.2006.10797914
- Colchado-López, J., Cervantes, R. C., and Rosas, U. (2019). A linear model to describe branching and allometry in root architecture. *Plants* 8, 1–11. doi: 10.3390/plants8070218
- Davis, J. I., and Gilmartin, A. J. (1985). Morphological variation and speciation. *Syst. Bot.* 10, 417–425. doi: 10.2307/2419135
- Delgado-Sánchez, P., Jiménez-Bremont, J. F., Guerrero-González, M., de la, L., and Flores, J. (2013). Effect of fungi and light on seed germination of three *Opuntia* species from semiarid lands of central Mexico. *J. Plant Res.* 126, 643–649. doi: 10.1007/s10265-013-0558-2
- Fay, M. F., and Grattón, J. (1992). Tissue culture of cacti and other succulents: a literature review and a report on micropropagation at Kew. *Bradleya* 10, 33–48. doi: 10.25223/brad.n10.1992.a4
- Gulmon, S. L., Rundel, P. W., Ehleringer, J. R., and Mooney, H. A. (1979). Spatial relationships and competition in a Chilean desert cactus. *Oecologia* 44, 40–43. doi: 10.1007/BF00346395
- Guzmán, U., Salvador, A., and Dávila, P. (2003). *Catálogo de Cactáceas mexicanas*. 1st Edn. Mexico City, Mexico: CONABIO, UNAM.
- Heppell, J., Talboys, P., Payvandi, S., Zygalakis, K. C., Fliege, J., Withers, P. J. A., et al. (2015). How changing root system architecture can help tackle a reduction in soil phosphate (P) levels for better plant P acquisition. *Plant Cell Environ.* 38, 118–128. doi: 10.1111/pce.12376
- Hernández, H. M., and Gómez-Hinojosa, C. (2015). *Mapping the Cacti of Mexico Part II: Mammillaria*. 1st Edn, ed. D. Hunt (Milborne Port, England: DH Books).
- Hernández-Hernández, T., Brown, J. W., Schlumberger, B. O., Eguiarte, L. E., and Magallón, S. (2014). Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the new world succulent biome. *New Phytol.* 202, 1382–1397. doi: 10.1111/nph.12752
- Hinojosa-Alvarez, S., Arias, S., Ferrand, S., Purugganan, M. D., Rosas, J., Rosas, U., et al. (2020). The chloroplast genome of the pincushion cactus *Mammillaria haageana* subsp. *san-angelensis*, a Mexican endangered species. *Mitochondrial DNA Part B* 5, 2038–2039. doi: 10.1080/23802359.2020.1757523
- Hunt, D. (1983). A new review of *Mammillaria* names A-C. *Bradleya* 1, 105–128. doi: 10.25223/brad.n1.1983.a10
- Hunt, D. R., Taylor, N. P., and Glass, H. (2006). *The new Cactus Lexicon: Descriptions and Illustrations of the Cactus Family*. 1st Edn. Milborne Port: DH Books.
- Hunt, E. R., and Nobel, P. S. (1987). A two-dimensional model for water uptake by desert succulents: Implications of root distribution. *Ann. Bot.* 59, 559–569. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a087350
- Levy, S. F., Ziv, N., and Siegal, M. L. (2012). Bet hedging in yeast by heterogeneous, age-correlated expression of a stress protectant. *PLoS Biol.* 10:e1001325. doi: 10.1371/journal.pbio.1001325
- Lüthy, J. M. (1995). *Taxonomische untersuchung der gattung Mammillaria Haw.* (dissertation/doctoral thesis). [Bern(Suiza)]:Universität Bern.
- Martino, P. A., Bauk, K., Ferrero, M. C., Gurvich, D. E., and Las Peñas, M. L. (2018). Ecological significance of determinate primary root growth: inter- and intra-specific differences in two species of *Gymnocalycium* (Cactaceae) along elevation gradients. *Flora* 248, 70–75. doi: 10.1016/j.flora.2018.09.001
- Mociño, J. M., and Sessé, M. (2015). *La Real Expedición Botánica a Nueva España Tomos I-XIII*. 1st Edn. Mexico City, Mexico: Coordinación de Humanidades, UNAM.
- Niklas, K. J., Molina-Freaner, F., Tinoco-Ojanguren, C., and Paolillo, D. J. (2002). The biomechanics of *Pachycereus pringlei* root systems. *Am. J. Bot.* 89, 12–21. doi: 10.3732/ajb.89.1.12
- Nobel, P. S. (1977). Water relations and photosynthesis of a barrel cactus, *Ferocactus acanthodes*, in the Colorado desert. *Oecologia* 27, 117–133. doi: 10.1007/BF00345817
- Okamoto, K. W., Langerhans, R. B., Rashid, R., and Amarasekare, P. (2015). Microevolutionary patterns in the common caiman predict macroevolutionary trends across extant crocodylians. *Biol. J. Linn. Soc.* 116, 834–846. doi: 10.1111/bij.12641
- Pilbeam, J. (1999). *Mammillaria*. 1st Edn. Oxford: Nuffield Press.
- R Core Team (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Available online at: <https://www.r-project.org/> (accessed September 03, 2021).
- Reppenhagen, W. (1992). *Die gattung Mammillaria. Monographie*. Vol. 2. Titisee-Neustadt, Germany: Druckerei Steinbart.
- Richards, C. L., Rosas, U., Banta, J., Bhambhra, N., and Purugganan, M. D. (2012). Genome-wide patterns of *Arabidopsis* gene expression in nature. *PLoS Genet.* 8, 1–14. doi: 10.1371/journal.pgen.1002662
- Rodríguez-Alonso, G., Matvienko, M., López-Valle, M. L., Lázaro-Mixteco, P. E., Napsucialy-Mendivil, S., Dubrovsky, J. G., et al. (2018). Transcriptomics insights into the genetic regulation of root apical meristem exhaustion and determinate primary root growth in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Sci. Rep.* 8, 1–11. doi: 10.1038/s41598-018-26897-1
- Rosas, U., Lara-González, J. A., De-la-Rosa-Tilapa, A., and Terrazas, T. (2021). Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) seedlings. *J. Arid Environ.* 187, 1–5. doi: 10.1016/j.jaridenv.2020.104431
- Scheinvar, L. (2004). *Flora cactológica del Estado de Querétaro Diversidad y Riqueza*. 1st Edn. Mexico City, Mexico: Fondo de Cultura Económica.
- Shishkova, S., Las Peñas, M. L., Napsucialy-Mendivil, S., Matvienko, M., Kozik, A., Montiel, J., et al. (2013). Determinate primary root growth as an adaptation to aridity in Cactaceae: towards an understanding of the evolution and genetic control of the trait. *Ann. Bot.* 112, 239–252. doi: 10.1093/aob/mct100
- Solórzano, S., Chincoya, D. A., Sanchez-Flores, A., Estrada, K., Díaz-Velásquez, C. E., González-Rodríguez, A., et al. (2019). *De novo* assembly discovered novel structures in genome of plastids and revealed divergent inverted

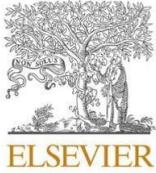
## SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.750623/full#supplementary-material>

- repeats in *Mammillaria* (Cactaceae, Caryophyllales). *Plants* 8, 1–16. doi: 10.3390/plants8100392
- Solórzano, S., Cuevas-Alducin, P. D., García-Gómez, V., and Dávila, P. (2014). Genetic diversity and conservation of *Mammillaria huitzilopochtli* and *M. supertexta*, two threatened species endemic of the semiarid region of central Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 85, 565–575. doi: 10.7550/rmb.39066
- Solórzano, S., and Dávila, P. (2015). Identification of conservation units of *Mammillaria crucigera* (Cactaceae): perspectives for the conservation of rare species. *Plant Ecol. Divers.* 8, 559–569. doi: 10.1080/17550874.2015.1044581
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 87, 559–902. doi: 10.1016/j.rmb.2016.06.017
- Wilczek, A. M., Roe, J. L., Knapp, M. C., Cooper, M. D., Lopez-Gallego, C., Martin, L. J., et al. (2009). Effects of genetic perturbation on seasonal life history plasticity. *Science* 323, 930–934. doi: 10.1126/science.1165826
- Wittkopp, P. J., Stewart, E. E., Arnold, L. L., Neidert, A. H., Haerum, B. K., Thompson, E. M., et al. (2009). Intraspecific polymorphism to interspecific divergence: genetics of pigmentation in *Drosophila*. *Science* 326, 540–544. doi: 10.1126/science.1176980
- Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.
- Publisher's Note:** All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

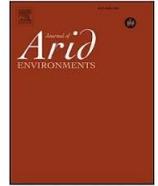
Copyright © 2021 González-Sánchez, Santiago-Sandoval, Lara-González, Colchado-López, Cervantes, Vélez, Reyes-Santiago, Arias and Rosas. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

11.2 Publicación del artículo de investigación: Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) seedlings.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Arid Environments

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jaridenv](http://www.elsevier.com/locate/jaridenv)

Short communication

## Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) seedlings

 Ulises Rosas<sup>a,\*</sup>, José Antonio Lara-González<sup>a</sup>, Alejandro De-la-Rosa-Tilapa<sup>b,c</sup>, Teresa Terrazas<sup>b</sup>
<sup>a</sup> Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, CDMX, Mexico<sup>b</sup> Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, CDMX, Mexico<sup>c</sup> Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, CDMX, Mexico

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Root system architecture  
Cacti  
Root development  
Barrel cacti  
Giant viznaga  
Arid environments  
Salt stress  
Osmotic stress  
Halophyte  
Salinity

## ABSTRACT

*Echinocactus platyacanthus* is a remarkable globular cacti that can reach sizes up to 2 m in diameter, and is known for its high tolerance to salt stress, as they inhabit arid environments where salinity is prominent. Understanding the early developmental events of salt tolerance and stress responses will help understand how seedlings establish in arid environments. Thus, we asked how *E. platyacanthus* seedlings face continuous and prolonged exposure to high salinity concentrations, focusing in particular on the developmental responses of the root system architecture. We used 13 days old seedlings grown *in vitro*, in media supplemented with NaCl at toxic concentrations for many plants. Seedlings can withstand highly toxic salt concentrations and survival was not compromised. As expected, continuous and prolonged salt stress reduced root system architecture growth. However, adventitious and basal root development persisted in salt stressed seedlings, while main root growth was inhibited and epicotyl elongation was stunted. Adventitious and basal root proliferation might be an important component of tolerance to prolonged salt stress, and possibly crucial for the establishment of seedlings of *E. platyacanthus* in the wild.

After germination, the first months or even years of cacti seedling growth are crucial for the establishment and transition of the plant towards adulthood. Some important aspects of seedling establishment are: interactions with nurse plants to reduce high temperatures and isolation near the soil surface and create an environment rich in nutrients (Delgado-Sánchez et al., 2013; Franco y Nobel, 1989); the metabolism of C3 in cacti seedlings under shade stress conditions (as opposed to CAM in adult plants) during the first weeks of development, which might accelerate growth (Altesor et al., 1992; Loza-Cornejo et al., 2003); the relationship between the surface area available for evapotranspiration, and the volume for plants to store water, where seedlings exhibit a lower ratio than in adult cacti (Mauseth, 2000; Nobel, 2003).

Salt stress reduces plant growth and particularly root growth by the combined effects of osmotic stress, ion toxicity, and oxidative stress (Bernstein, 2013). Osmotic stress reduces root growth, apical meristem size, and accelerates cell differentiation of meristem cells, although partial tolerance can be observed in natural variants (Cajero-Sanchez et al., 2019). In *Arabidopsis thaliana*, grown under lethal NaCl concentration (200 mM), lateral roots exhibited more salt tolerance than

primary roots; however, lateral roots lost their tolerance once they grew beyond 400  $\mu\text{m}$  (Ambastha et al., 2020). This led us to hypothesize that *Echinocactus platyacanthus*, a cacti species suggested to be salt tolerant (Schuch y Kelly, 2008), might preferentially develop different types of roots when facing salt stress.

*Echinocactus platyacanthus* Link & Otto is a barrel cactus, endemic to Mexico. In *Echinocactus*, *E. texensis* is a halophytic species (Flores-Olvera et al., 2016); meanwhile *E. platyacanthus* can be found in the xerophilous scrubs, in calcareous soils, but growth in halophytic soils has not been demonstrated yet. Among barrel cacti, *E. platyacanthus* are the largest, with sizes up to 2 m tall and 1 m wide. However, this species is slow growing, and seedlings are rarely seen in nature.

Because of their resilience following prolonged water and heat stress, as well as their capacity to store water, cacti have received attention in understanding how the plant copes with challenging conditions such as osmotic stress or heat tolerance. However, most of the focus is on understanding the aerial part, as was the case for osmotic stress in *E. platyacanthus* seedlings (Rosas et al., 2012), or long-term heat exposure in *E. platyacanthus* young plants (Aragón-Gastélum et al., 2014), or

Abbreviations: CAM, crassulacean acid metabolism; das, days after sowing; NaCl, sodium chloride.

\* Corresponding author.

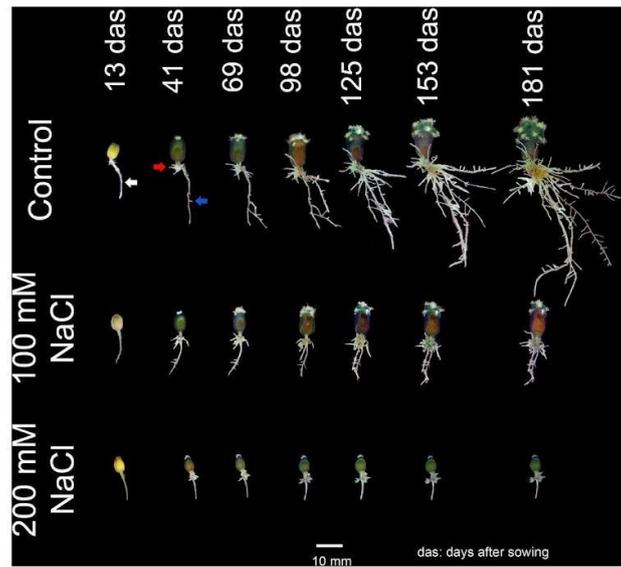
E-mail address: [urosas@ib.unam.mx](mailto:urosas@ib.unam.mx) (U. Rosas).

<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104431>

Received 14 August 2020; Received in revised form 17 December 2020; Accepted 29 December 2020

Available online 12 January 2021

0140-1963/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.



**Fig. 1.** *E. platyacanthus* seedlings growth under salt stress. Seedlings were transplanted to treatments 13 days after sowing (das), and imaged at regular intervals over a period of six months. Arrows denote the main root (white), adventitious + basal roots (red), and lateral roots (blue). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

heat shock stress in young plants of *Echinocactus grusonii* (Nuzhyna et al., 2018). Yet, little is known about what occurs with the root architectural system during the prolonged stresses that cacti seedlings face in the wild (Larson et al., 2020). Here, we analyzed the early development of *E. platyacanthus* seedlings grown under a harsh, continuous salt stress, to phenotypically determine plant responses. Particularly, we followed the emerging configuration of the root system architecture, observing the plants every four weeks over a period of more than six months, to determine how different types of roots proliferate and grow under salt stress.

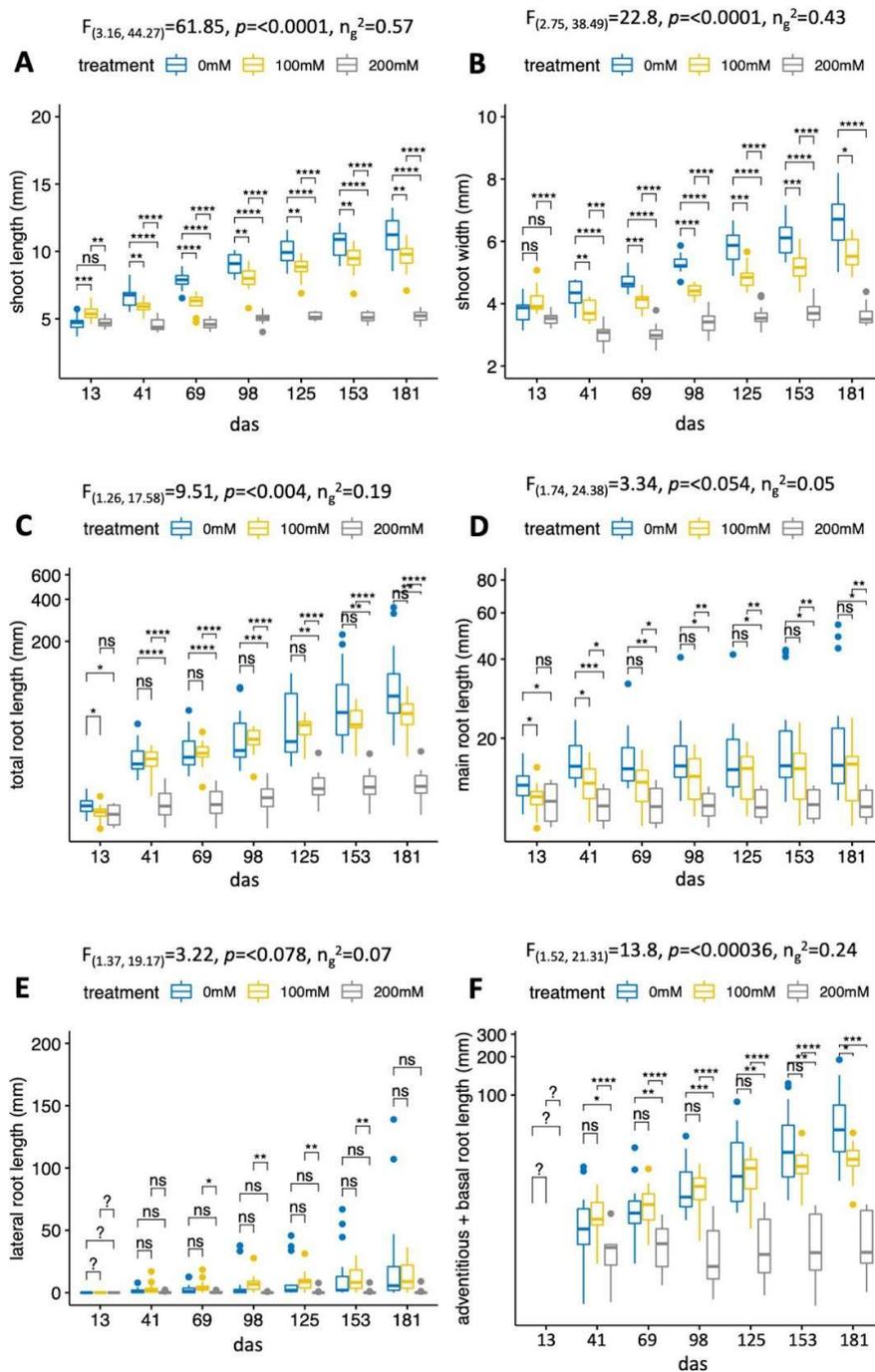
To do this seeds of *E. platyacanthus* Link & Otto were obtained from the Jardín Botánico collection (plant SA1924, collection license SGPA/DGGFS/712/3690/10), originally collected from Santiago Chazumba (Oaxaca, Mexico). Seeds were harvested within a year of fruit set prior germination. Seeds were disinfected in a laminar flow-hood with HEPA filter (Veco, México), washed with commercial bleach 70% for 5 min, rinsed five times with sterile distilled water and suspended in agar 0.1% prior sowing. 100 seeds were sown in half strength Murashige-Skoog media (MS 50%) (Caisson Labs, cat MSP09-1LT, USA), added with 0.05% MES salts (MP Biomedicals, cat 152 554, USA), adjusted to pH 5.7, and solidified with 1% bacteriological agar (Sigma-Aldrich, cat A1296-1 KG, USA). 75 mL of autoclaved media was verted in each sterile 12 × 12 cm square petri dishes (Greiner Bio-One, cat 68 102, USA). Seed were sown in these plates, and 68 seedlings were obtained in a period of 13 days after sowing (das), after which, 45 seedlings that germinated the same day were randomly selected to be transferred to the three treatments (15 seedlings in each) in fresh plates containing NaCl or no salt. To elaborate salt-containing media, 100 mM or 200 mM of NaCl (Sigma-Aldrich, cat 7647-14-5, USA) was added to the MS 50% media described above prior pH adjustment. During the transplant, we prepared a sterile 0.3% agar solution and placed some drops on top of the roots in order to glue the seedlings to the agar plate surface; following this procedure plates were kept horizontally for three days, to allow for the seedlings to fully attach to the agar. After this, plates were kept in vertical position. Plates were imaged weekly from the day of the transplant (day 13), up to 168 days after transplant (day 189), using a desktop scanner (Epson V600, USA), at a 600 dpi resolution in jpg format. For simplicity, we decided to analyze only images obtained every 4 weeks, corresponding to 13, 41, 69, 98, 125, 153, and 181 das, as development in cacti is slow, but significant differences are notable over periods of several weeks.

At the moment of transplanting, the shoot was predominantly the hypocotyl, with rather small cotyledons and some emerging areolas from the shoot apical meristem. The root was a single axis, where the proximal end is covered with root hairs and some visible lateral root primordia, as opposed to the distal end of the root axis (Fig. 1). In Control conditions, both the hypocotyl and the epicotyl elongated; the epicotyl exhibited a prominent proliferation of areolas, which was quite evident at day 181. However, the elongation of the epicotyl was severely reduced under both salt stress conditions, with a stronger effect in 200 mM than in 100 mM of NaCl. Interestingly, under 100 mM the elongation of the epicotyl and formation of new areolas continued. Regarding the root system, under Control conditions, at the moment of transplant there was a main root which continued elongating, but at a slower rate than other root types. Therefore, the main root was not distinguishable after 181 days. Basal and adventitious roots started to proliferate from early stages (at day 69) in all three treatments, which profusely elongated and branched into lateral roots under the Control condition. Under salt stress, both basal and adventitious roots persisted and we observed very few lateral roots. In these two salt treatments, the main root was still recognizable at the end of the experiment (after 181 days).

Using the digital images we quantified the length and the width of seedlings. Each parameter was subject to a two-way repeated measures ANOVA using the R package rstatix 0.6.0 (Kassambara, 2020), having treatment and time as factors, correcting for sphericity with Greenhouse-Geisser and Huynh-Feldt epsilon values, and prior visual inspection of the parameters normality with qq-plots (Appendix A). Following this, pairwise t-tests with Bonferroni corrected *p*-values were done to compare treatments at each time-point.

Under Control conditions we observed an increment in both seedling length and width. Under salt stress the transplant caused a shock for the seedlings, which lost size during the first weeks (Fig. 2A–B, E–F), but the seedlings recovered later after 98 days. For seedlings under 100 mM NaCl, the shoot not only recovered but increased in size (Fig. 1, Fig. 2A and B). At 200 mM the shoot recovered to maintain its initial size, or minimally grew as compared to 100 mM or Control (Fig. 2B).

We also measured aspects of the root architecture, classifying the roots as the main root, lateral roots, or adventitious + basal roots (Fig. 1). Although root growth was inhibited by salt stress, the transplant did not cause a shrinkage on the total root length (Fig. 2C), as opposed to the phenotypic shock observed in the shoot at days 41–69. This might be



**Fig. 2.** Quantitative dynamics of root and shoot growth in *E. platyacanthus* seedlings under salt stress. Boxplots depict median, quartiles, and outliers;  $n = 15$ . Statistics of interaction between time and treatment is depicted above each plot. Asterix indicate significant pairwise *t*-test differences due to treatment at each time-point, after Bonferroni corrected *p*-values; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.005$ , \*\*\* $p < 0.0005$ , *ns* not significant, ? not calculated. Total root, main root, and adventitious + root lengths are displayed on log-scale to facilitate the visual comparison between treatments.

because the root does not have as much water to be lost as compared to the shoot, or the root is highly efficient at avoiding water loss. Lateral roots were almost absent in the 200 mM treatment (Fig. 2E). Interestingly at 100 mM, salt stress seems to allow for adventitious + basal roots to proliferate and persist, which is noticeable by the larger box plot bar on Fig. 2F. This proliferation and persistence of adventitious + basal roots were even more evident at 200 mM. To support this point, we also provide the number of lateral roots and adventitious + basal roots (Appendix B). We therefore propose that prolonged and harsh salt stress (200 mM NaCl) in *E. platyacanthus* initially dehydrates the seedlings, but shoots are able to recover up to a basal state when the epicotyl does not elongate. The root is therefore responsible for foraging for water and

nutrients, and it does so by the proliferation and persistence of adventitious + basal roots, rather than lateral roots, which seem to be repressed. This might be one of the phenotypic plasticity responses underlying the survival of *E. platyacanthus* seedlings under prolonged harsh salt stress.

Summarizing, we characterized the early seedling development of *E. platyacanthus*, focusing on the often overlooked root architectural system, grown under toxic salt stress (100 mM and 200 mM of NaCl) for more than six months. We found that salt stress stunned seedling growth, but surprisingly plants were still alive after 181 days. Salt stress almost completely stopped the elongation of the main root, but short adventitious + basal roots proliferated or persisted. On the shoot, salt

stress severely reduced epicotyl elongation, but new areolas still emerged, probably supported by seedling reserves stored in the hypocotyl, but also by the limited resources that adventitious + basal roots were able to uptake.

It is clear that different types or roots proliferate during early seedling development, and some of them have preferential growth during salt stress tolerance in *E. platyacanthus*. It has been proposed that succulent plants have distinct types of roots with different functions (Dubrovsky y Nobel, 2002). During salt stress a priority function is to avoid  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  toxicity, and therefore the root is required to perform a barrier function (De-Jesús-García et al., 2020); however, not all types of roots might have the same functionality at avoiding toxic ion concentrations. Interestingly, the adventitious + basal roots in *E. platyacanthus* emerge from the root-shoot junction, a region that has been reported to be important for cacti for effective water transport, working as a valve when water supply is limited, avoiding water leakages under drought (Kim et al., 2018). Thus, we proposed that, at early seedling stages during prolonged salt stress in *E. platyacanthus*, the proliferation and persistence of specific root types might be an essential feature allowing the plant to avoid toxic ions, withstand water stress, and ultimately survive under harsh conditions. Yet, functional characterizations of different types of roots, as well as their anatomical consequences still need to be explored.

Interestingly, the shoot and root growth dynamics were rather different in *E. platyacanthus* seedlings under salt stress (Fig. 2). While the shoot shrank during the first weeks after the transplant (particularly the shoot width), the root continued growing, even at a slow rate, probably reflecting different mechanisms of toxic ion concentration exclusion in the shoot and the root. Previous studies have shown in *Cereus validus* treated with increasing concentrations of NaCl solutions over 16 days, that  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  concentration in the shoot increased 2–10 fold, whereas in the root the ion concentrations increased more dramatically from 10 to 30 fold, proposing that roots have  $\text{Na}^+$  retention mechanisms to exclude toxic ion concentrations from the shoot (Nobel et al., 1984). In our results in *E. platyacanthus*, a similar mechanism might be in place, but it has to be induced during the first weeks when the plant faces salt stress for the first time. At this moment, the main root is in charge of sustaining the nutrient and water uptake, but after the plant is acclimated to the sudden salt stress and the shoot recovers its size at 200 mM NaCl, the adventitious + basal roots proliferate and persist, possibly sustaining the seedling survival. This also supports the idea that the root is a barrier to restrain mobility of toxic ions towards the shoot (De-Jesús-García et al., 2020), and this barrier function can be induced, so the root develops mechanisms to avoid toxic ions uptake, while continuing its growth and avoiding shoot desiccation as in *E. platyacanthus* seedlings.

Natural environments where soil salinity prevails, several ions might be present such as  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , and  $\text{Mg}^{2+}$ , which often chemically interact to form salt complexes in the soil matrix context. This means that salt stress in nature might be a rather convoluted problem to address. However, in the laboratory some salt constitutions could be simulated to observe morphological, anatomical and physiological responses in plants. For instance, further avenues of research would evaluate root growth under other salts combinations containing calcium, and their interaction with NaCl salts, which might partially explain the observed diversity on calcium oxalate crystals in Cactaceae (Ayala-Cordero et al., 2006; Hartl et al., 2007), proposed to be important responses of drought and salt tolerance.

Conversely, at the root apex where the endodermis has not yet formed, toxic ions might have free passage. It has been observed that the radicle of *E. platyacanthus* is about 230  $\mu\text{m}$ , with lipid bodies in the cells, and protein bodies in the ground meristem (containing a large crystal body) and the protodermis (containing several small crystals); in both cases, the crystals are made out of phosphorous, potassium, and magnesium (Lux et al., 1994). These lipids and crystals have been proposed to have a role during early seedling development and tolerance to

prolonged salt stress, for instance on the sequestration of toxic ions on the root, to restrain their flux to the shoot (Nobel et al., 1984), even when the root endodermis has not been fully formed, as it is the case of the root apex. Novel approaches are needed to tackle understanding of how cacti seedlings become established during early stages of development and how they withstand prolonged stresses to become large water bearing vessels observed in *E. platyacanthus*.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgments

ADLRT thanks Posgrado en Ciencias Biológicas (UNAM), and the MSc scholarship from CONACyT (703332). This work was done at Laboratorio Nacional de Biodiversidad (LaNaBio-CONACyT, project 268109). We thank Jardín Botánico (IBUNAM), Prof. Salvador Arias and his team for providing the seeds used in this work. Finally, we thank Royce W. Zhou for English proof-reading the manuscript.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104431>.

## Funding

This research was supported by UNAM-DGAPA-PAPIIT grants IN211319 and IN205419 to UR and TT respectively.

## Author contributions

UR, JALG, ADLRT & TT: Conceptualization; JALG & ADLRT: Data curation; UR & JALG: Formal analysis; UR & TT: Funding acquisition; UR, JALG, ADLRT & TT: Investigation; UR, JALG, & ADLRT: Methodology; UR & TT: Project administration; UR: Writing - original draft; UR, JALG, ADLRT & TT: Writing - review & editing; UR: responded to the reviewers and editor comments.

## References

- Altesor, A., Ezcurra, E.C.S., 1992. Changes in the photosynthetic metabolism during the early ontogeny of four cactus species. *Acta Oecol.* 13, 777–785.
- Ambastha, V., Friedmann, Y., Leshem, Y., 2020. Laterals take it better – emerging and young lateral roots survive lethal salinity longer than the primary root in *Arabidopsis*. *Sci. Rep.* 10, 3291. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60163-7>.
- Aragón-Gastélum, J.L., Flores, J., Yáñez-Espinosa, L., Badano, E., Ramírez-Tobías, H.M., Rodas Ortiz, J.P., González-Salvatierra, C., 2014. Induced climate change impairs photosynthetic performance in *Echinocactus platyacanthus*, an especially protected Mexican cactus species. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* 209, 499–503. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.06.002>.
- Ayala-Cordero, G., Terrazas, T., López-Mata, L., Trejo, C., 2006. Morpho-anatomical changes and photosynthetic metabolism of *Stenocereus beneckei* seedlings under soil water deficit. *J. Exp. Bot.* 57, 3165–3174. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl078>.
- Bernstein, N., 2013. The effects of salinity on root growth. In: Eshel, A., Beekman, T. (Eds.), *Plant Roots, the Hidden Half*. CRC Press, Florida, USA en.
- Cajero Sánchez, W., Aceves García, P., Fernández Marcos, M., Gutiérrez, C., Rosas, U., García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E.R., Sánchez de la, M.P., Garay-Arroyo, A., 2019. Natural root cellular variation in responses to osmotic stress in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Genes* 10. <https://doi.org/10.3390/genes10120983>.
- De-Jesús-García, R., Rosas, U., Dubrovsky, J.G., 2020. The barrier function of plant roots: biological bases for selective uptake and avoidance of soil compounds. *Funct. Plant Biol.* 47, 383–397.
- Delgado-Sánchez, P., Yáñez-Espinosa, L., Jiménez-Bremont, J.F., Chapa-Vargas, L., Flores, J., 2013. Ecophysiological and anatomical mechanisms behind the nurse effect: which are more important? A multivariate approach for cactus seedlings. *PLoS One* 8, e81513.

- Dubrovsky, J.G., Nobel, G.B., 2002. Root structure and function. In: Nobel, P. (Ed.), *Cacti, Biology and Uses*. University of California Press, Los Angeles, USA, p. 41+56 en.
- Flores-Olvera, H., Czaja, A., Estrada-Rodríguez, J.L., Méndez, U.R., 2016. In: Khan, M., Boër, B., Öztürk, M., Clüsener-Godt, M., Gul, B., Breckle, S.W. (Eds.), *Floristic Diversity of Halophytic Plants of Mexico*, en, *Sabkha Ecosystems. Tasks for Vegetation Science*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-27093-7\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-27093-7_17).
- Franco, A.C., Nobel, P.S., 1989. Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *J. Ecol.* 77, 870–886. <https://doi.org/10.2307/2260991>.
- Hartl, W.P., Klapper, H., Barbier, B., Ensikat, H.J., Dronskowski, R., Müller, P., Ostendorp, G., Tye, A., Bauer, R., Barthlott, W., 2007. Diversity of calcium oxalate crystals in Cactaceae. *Can. J. Bot.* 85, 501–517. <https://doi.org/10.1139/B07-046>.
- Kassambara, A., 2020. *Rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests*.
- Kim, H., Kim, K., Lee, S.J., 2018. Hydraulic strategy of cactus root–stem junction for effective water transport. *Front. Plant Sci.* 9, 799. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00799>.
- Larson, J.E., Anacker, B.L., Wanous, S., Funk, J.L., 2020. Ecological strategies begin at germination: traits, plasticity and survival in the first 4 days of plant life. *Funct. Ecol.* 1–12. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13543>.
- Loza-Cornejo, S., Terrazas, T., López-Mata, L., Trejo, C., 2003. Características morfo-anatómicas y metabolismo fotosintético en plántulas de *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae): su significado adaptativo. *Interciencia* 28, 83–89.
- Lux, A., Mikuš, M., Hanáčková, Z., Kristín, J., 1994. Radicle of *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae). *Plant Soil* 167, 17–21.
- Mauseth, J.D., 2000. Theoretical aspects of surface-to-volume ratios and water-storage capacities of succulent shoots. *Am. J. Bot.* 87, 1107–1115. <https://doi.org/10.2307/2656647>.
- Nobel, P.S., 2003. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press.
- Nobel, P.S., Lüttge, U., Heuer, S., Ball, E., 1984. Influence of applied NaCl on crassulacean acid metabolism and ionic levels in a cactus, *Cereus validus*. *Plant Physiol.* 75, 799. <https://doi.org/10.1104/pp.75.3.799>. LP – 803.
- Nuzhyna, N., Baglay, K., Golubenko, A., Lushchak, O., 2018. Anatomically distinct representatives of Cactaceae Juss. family have different response to acute heat shock stress. *Flora* 242, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.03.014>.
- Rosas, U., Zhou, R.W., Castillo, G., Collazo-Ortega, M., 2012. Developmental reaction norms for water stressed seedlings of succulent cacti. *PLoS One* 7, 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033936>.
- Schuch, U.K., Kelly, J.J., 2008. Salinity tolerance of cacti and succulents. *Turfgrass, Landsc. Urban IPM Res. Summ.*